



GROWTH AND DIFFERENTIATION
IN PLANTS

P. F. Wareing
School of Biological Sciences
University College
of Wales

and

I. D. J. Phillips
Department of Biological
Sciences
University of Exeter

Third Edition

Pergamon Press

Oxford · New York · Toronto · Sydney
Paris · Frankfurt

Ф. УОРИНГ, И. ФИЛЛИПС

РОСТ РАСТЕНИЙ
И
ДИФФЕРЕНЦИРОВКА

Перевод с английского
канд. биол. наук Н. Л. Клячко
и канд. биол. наук И. А. Смирнова
под редакцией
д-ра биол. наук В. И. Кефели

Москва «Мир»

1984

ББК 28.5
У 64
УДК 581.143

Уоринг Ф., Филлипс И.

У 64

Рост растений и дифференцировка: Пер. с англ. — М.: Мир, 1984. — 512 с., ил.

Монография английских ученых посвящена структурным и морфологическим аспектам развития растений, гормональной регуляции роста, обмена веществ и дифференцировки, влиянию факторов окружающей среды на физиологические процессы, а также молекулярным механизмам дифференцировки тканей у растений.

Предназначена для физиологов, биохимиков и генетиков растений, для работников сельского хозяйства.

У $\frac{2004000000-172}{041(01)-84}$ 141—84, ч. 1

ББК 28.5

58

Редакция литературы по биологии

Предисловие редактора перевода

В руках читателя монография, посвященная процессам роста и дифференцировки растений, выпущенная издательством «Пергамон-Пресс». Первое издание книги появилось в 1970 г., и с тех пор пособие переиздавалось в 1971, 1973, 1975, 1976 и 1977 гг. Авторы книги — известные специалисты в области регуляции роста растений, преподаватели университетов Англии: П. Уоринг работает в Абериствисе, а И. Филлипс в Эксетере. Имя первого автора хорошо известно физиологам растений нашей страны. Он приезжал в АН СССР с лекциями, участвовал в научных конференциях и симпозиумах, проводимых в Москве и Ленинграде.

В основе организации всего научного материала лежит представление авторов о росте растения как о сложном процессе, связанном с увеличением размеров (ростом) клеток, тканей и органов, а также с их дифференцировкой. Авторы рассматривают рост как необратимые количественные изменения в клетках тканей и органов, тогда как дифференцировку — как качественные изменения, наблюдаемые в процессе развития.

Особое внимание в книге уделено фитогормонам и их влиянию на процессы роста и дифференцировки. Вслед за Э. Либбертом (1972), А. Леопольдом (1975) и П. Э. Пиле (1976) авторы изменили прежнюю точку зрения, излагавшуюся в первом издании книги, и представляют гормональную концепцию на основе существования двух типов фитогормонов: ауксинов, гиббереллинов и цитокининов, стимулирующих рост, и абсцизовой кислоты и этилена, ингибирующих рост. Это представление идет вразрез с концепцией, которую отстаивает Г. Смит (1978), отрицающий существование веществ-ингибиторов. В книге описан баланс гормонов и ингибиторов, как основа регуляции роста и дифференцировки.

Рассматривая механизмы действия гормонов, авторы останавливаются на старых теориях двухточечного рецептора и «критического расстояния» для ауксинов и новых, основанных на анализе молекул гиббереллинов. Причем авторы не ограничиваются простым изложением известных проблем, а предлагают возможные пути их решения, ставя перед читателем конкретные вопросы, например, как ауксин усиливает секрецию ионов H^+ ? Почему нужен синтез РНК и белка для растягивающихся клеток? Как изменение рН в клеточных стенках меняет их свойства? Специально рассмотрены индукторные свойства гибберелловой кислоты, биосинтез мРНК и фермента α -амилазы.

Обсуждая механизм действия этилена, авторы обращают внимание на то, что этот газ активирует не биосинтез целлюлазы или α -амилазы в отдельных клетках черешка опадающего листа, а меняет проницаемость клеточных мембран, в частности плазмалеммы, и активирует высвобождение дополнительных количеств этого фермента из цитоплазмы в оболочку. В связи с механизмом действия этилена интересен тот факт, что этот гормон не перемещается активно из одной части растения в другую.

До сих пор нет окончательных данных о механизмах действия абсцизовой кислоты (АБК). Вне всякого сомнения этот ингибитор подавляет синтез белка, повышая активность РНКазы и снижая уровень РНК, но, как полагают, это не первичный механизм действия АБК. Другой возможный механизм — закрывание устьиц — быстрый мембранный эффект АБК, по-видимому, с синтезом РНК не связан. Весьма ценно, что, обсуждая взаимодействие отдельных гормонов и механизмы гистогенеза, регулируемые ауксинами, гиббереллинами и цитокининами, авторы особое внимание уделяют корреляционным взаимодействиям органов.

Основным достоинством книги является целостный принцип изложения материала с учетом результатов по цитологическим, биохимическим и физиологическим аспектам развития растений. Данная книга — несомненно одно из самых исчерпывающих руководств для желающих познакомиться с такой сложной проблемой, как рост и дифференцировка.

В книге, носящей характер учебного пособия, конечно, невозможно было отразить все многообразие тенденций в развитии учения о росте и дифференцировке. Вместе с тем авторы пытались выделить приоритет определенной научной школы, и в том числе советской, в разработке той или иной проблемы. Так, гормональная теория цветения связана с именами М. Х. Чайлахяна и Б. С. Мошкова, функции и метаболизм ингибиторов роста — В. И. Кефели, Ч. Ш. Кадырова. Первые исследования по этилену связываются с именем замечательного физиолога Д. Нелюбова.

К сожалению, Уоринг и Филлипс не упомянули некоторые работы советских ученых, ставшие классическими, в частности:

Кренке Н. П. Теория циклического старения и омоложения растений и практическое ее применение. — М.: Огиз. Сельхозгиз, 1940.

Сабинин Д. А. Физиология развития растений. — М.: Изд-во АН СССР, 1961.

Холодный Н. Г. Фитогормоны. Очерки эндокринологии растений. Избран. труды АН УССР, т. 2. — Киев: Изд-во АН УССР, 1957.

В. И. Кефели

Предисловие к третьему изданию

Подготовка третьего издания книги повлекла за собой основательный пересмотр и реорганизацию материала предыдущего издания. В настоящей книге он сгруппирован в четыре основных раздела. Раздел I посвящен структурным аспектам развития на разных уровнях организации, что создает основу для понимания биохимических и физиологических подходов к проблеме, которые составляют содержание последующих разделов. В разделе II рассмотрены основные классы фитогормонов и их роль в эндогенной регуляции развития. Материал этого раздела подвергся значительной переработке и реорганизации, а главы, посвященные биохимии и механизмам действия фитогормонов, значительно расширены. Раздел III, касающийся различных аспектов влияния внешних условий на развитие, пополнен новыми данными, а глава о ростовых движениях практически написана заново. И наконец, в разделе IV мы обсуждаем более общие проблемы развития, в частности его регуляцию на молекулярном уровне. Поскольку развитие, по существу, представляет собой процесс, связанный с дифференциальной активностью генов, в начале главы мы даем краткий обзор современного состояния знаний о структуре генома растений и о регуляции экспрессии генов у эукариот, хотя пока еще нельзя прямо связать эту информацию с огромным материалом, полученным в области развития растений при использовании других подходов. Несмотря на то, что каждый из четырех разделов книги вносит свой вклад в наше понимание развития, в настоящее время еще невозможно объединить эти разные стороны наших знаний в единое целое. Совершенно очевидно, что фитогормоны играют жизненно важную роль как в процессах роста и дифференцировки клеток и тканей, так и в ответных реакциях растений на воздействие факторов окружающей среды, но до тех пор пока мы не выясним механизм их действия на молекулярном и субклеточном уровнях, мы не сможем полностью понять их роль в развитии. Более того, хотя первостепенная роль гормонов в регуляции и координации *роста* не вызывает сомнений, степень участия гормонов в регуляции процессов *дифференцировки* пока не ясна, так как каждый из крупных классов гормонов имеет широкий

спектр действия в различных частях растения, и специфичность ответной реакции зависит от «запрограммированности» («компетенции») изучаемой ткани. В сравнении с огромным объемом информации, накопленной в области химии и биохимии гормонов, а также в отношении оказываемого ими действия наши знания о процессах, определяющих специфичность ответной реакции на гормон, крайне скудны. Фактически то большое внимание, которое уделяют гормонам исследователи, отражает недостаток наших знаний о других факторах, регулирующих развитие.

Мы очень признательны д-ру J. Ingle и проф. H. Smith, а также нашим коллегам д-рам R. Horgan, M. A. Hall и P. F. Saunders за чтение отдельных разделов переработанной рукописи и за полезные и важные для нас критические замечания.

Ф. Уоринг
И. Филлипс

РАЗДЕЛ I

СТРУКТУРНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ

Введение

Развитие сложно организованного взрослого растения из сравнительно просто устроенного зародыша, происходящее строго упорядоченно, представляет собой одну из самых интересных и захватывающих проблем биологии. В этой книге мы рассмотрим и попытаемся проанализировать те процессы, которые лежат в основе развития растений и регулируют его.

Термин *развитие* в широком смысле этого слова применяют к тем изменениям, через которые проходит организм за время своего жизненного цикла. Однако можно говорить также о развитии отдельных органов, тканей и даже клеток. Наиболее ярко развитие проявляется в изменении формы организма, например при переходе от вегетативного роста к цветению. Но мы также можем говорить о развитии листа от простого зачатка до сложного взрослого органа. Для изучения процессов развития используются различные подходы, основными среди них являются два следующих: 1) морфологический и 2) физиологический и биохимический. Предметом морфологии и анатомии развития сначала были главным образом видимые изменения, сопровождающие развитие, но сейчас интересы ученых направлены в основном на выяснение факторов и процессов, определяющих форму растения; с этой целью и применяются самые разнообразные методы, в том числе хирургические, методы культуры тканей, радиоавтография и др. Однако нельзя хорошо понять развитие без изучения многочисленных биохимических и физиологических процессов, лежащих в его основе и определяющих морфологические изменения. Именно биохимическим и физиологическим аспектам развития в основном посвящена эта книга.

Морфологи часто используют термин *морфогенез*, что в буквальном смысле слова означает возникновение формы в живом организме. Но под словом «форма» можно подразумевать не только внешний вид растения, но и его организацию в целом. Можно различить несколько уровней такой организации: 1) структурная организация отдельных клеток, видимая под электронным микроскопом, 2) организация клеток в ткани и 3) организация тела растения на макроскопическом уровне. Кроме того, при изучении морфогенеза мы имеем дело не толь-

ко с видимыми изменениями формы и структуры, но и с лежащими в их основе процессами, регулирующими развитие органов и тканей. А поскольку для понимания этих процессов в конце концов необходимо знать их физическую и химическую основы, эти аспекты морфогенеза уже граничат с физиологией и биохимией развития. Однако в настоящее время наши знания молекулярных основ морфогенеза очень фрагментарны, и мы располагаем недостаточными сведениями относительно физиологических и биохимических процессов, регулирующих, например, инициацию и развитие листьев.

Рассматривая физиологию развития, мы снова сталкиваемся с возможностью двух подходов. С одной стороны, довольно много знаний накоплено в области «внутренней» регуляции роста и дифференцировки с помощью гормонов, а с другой — четко показано, что для смены некоторых основных фаз жизненного цикла растения очень важны такие факторы внешней среды, как длина дня и температура. Правда, имеется немало данных, свидетельствующих о том, что внешняя среда часто влияет через изменение содержания и распределения гормонов внутри растения.

В этом разделе мы кратко рассмотрим структурные и морфологические аспекты развития сначала на клеточном и органном уровнях, а затем на уровне целого растения.

Глава 1

Развитие растительной клетки

1.1. ВВЕДЕНИЕ

Развитие любого растения включает такие процессы, как рост и дифференцировка. Термин *рост* характеризует *количественные* изменения, происходящие во время развития, иными словами, рост можно определить как процесс необратимого изменения размеров клетки, органа или всего организма. Внешняя форма органа представляет собой в первую очередь результат *дифференциального роста* вдоль определенных осей. Однако в процессе развития появляются не только количественные различия в числе и расположении клеток, составляющих те или иные органы, но между клетками, тканями и органами возникают также качественные различия, для характеристики которых применяется термин *дифференцировка*. Дифференцировка на клеточном и тканевом уровнях хорошо известна и служит главным образом предметом изучения анатомии растений. Кроме того, мы можем говорить о дифференцировке тела растения на побег и корень, а переход от вегетативной к репродуктивной фазе можно рассматривать как еще один пример дифференцировки. Следовательно, мы будем пользоваться термином дифференцировка в очень широком смысле, обозначая им любую ситуацию, в которой меристематические клетки дают начало двум или более типам клеток, тканей или органов, качественно отличающихся друг от друга.

Итак, *рост и дифференцировка — два основных процесса развития*. Обычно эти процессы протекают одновременно, хотя при определенных условиях можно вызвать рост без дифференцировки, например рост массы каллусных клеток (гл. 6).

В настоящей главе мы рассмотрим некоторые общие аспекты роста и дифференцировки клеток, а позднее более детально разберем механизм роста клеток растяжением (гл. 4) и молекулярные аспекты дифференцировки (гл. 13).

1.2. ЛОКАЛИЗАЦИЯ РОСТА

Одной из основных особенностей организмов является их способность поглощать из окружающей среды относительно простые вещества и использовать их для синтеза разнообразных сложных веществ, идущих на строительство клеток. В сущ-

ности, такое увеличение количества живой материи мы и называем ростом. На клеточном уровне этот процесс обычно приводит к увеличению размера клетки и в конечном итоге к ее делению. В наипростейшей форме эти два аспекта роста можно наблюдать у одноклеточных организмов, таких, как бактерии, одноклеточные водоросли и простейшие, где рост приводит к увеличению размеров каждой клетки, которая затем делится, и процесс повторяется.

Если мы рассмотрим рост многоклеточных организмов, например высших растений, то обнаружим более сложную ситуацию. Справедливо, что здесь рост также в конечном счете сводится к увеличению размеров и делению отдельных клеток, однако не все клетки, составляющие тело растения, обуславливают рост организма в целом, поскольку рост происходит только в определенных зонах — *меристемах*. Такое ограничение зон роста объясняется, по-видимому, тем, что зрелые растительные клетки обычно окружены относительно толстыми и твердыми клеточными стенками, а многие клетки механических и проводящих тканей являются, конечно, неживыми. Эти обстоятельства, вероятно, и затрудняют согласованный рост, включающий деление и растяжение клеток, у таких органов, как стебель, коль скоро он достигает определенной стадии дифференцировки. Позднее мы увидим, что большинство живых растительных клеток при определенных условиях восстанавливают свою способность к делению, но даже если они и начинают делиться вновь, то дочерние клетки не обязательно увеличиваются в размерах, разве что это относительно тонкостенные клетки, способные возвращаться к эмбриональному, или меристематическому, состоянию. Наличием довольно строго локализованных эмбриональных зон высшие растения отличаются от животных, у которых рост присущ всему организму в целом.

Различия между высшими растениями и животными, несомненно, связаны с основными различиями в способах питания этих двух групп. Поскольку произрастающие на суше автотрофные растения поглощают воду и минеральные соли из почвы, они обязательно должны иметь корни и вести прикрепленный образ жизни, тогда как большинство животных независимо от того, являются они травоядными или плотоядными, вынуждены активно искать себе пищу, для чего им нужно быть мобильными. Это требование мобильности для добывания пищи в свою очередь требует, чтобы животные имели гибкое тело, тогда как тело растений может быть намного более жестким, и действительно должно быть таким у прямостоящих растений, особенно у крупных деревьев. Жесткость и прочность тела растения зависят от наличия относительно толстых и твердых клеточных стенок, будь то живые клетки, например клетки листа, или неживые, например клетки механических тканей

стебля. (Жесткость тканей, состоящих главным образом из живых клеток, зависит, конечно, не просто от механических свойств стенок, а от их тургора, но даже в таких тканях клеточная стенка играет существенную роль в создании тургорного давления.) Вместе с тем у водных растений, как у низших, так и у покрытосеменных, питательные вещества поглощаются непосредственно побегом из окружающей воды, так что они могут свободно плавать, и механические ткани у них обычно значительно менее развиты, чем у растений, произрастающих на суше.

В теле растения имеется целый ряд различных типов меристем. Для осевых органов — стеблей и корней — характерны *апикальные меристемы*, т. е. рост этих органов в длину происходит только в верхушечных зонах и новые ткани добавляются к телу растения на проксимальной стороне. Рост такого типа называют *аккреционным ростом*. Апикальные меристемы стебля и корня постоянно сохраняют свое эмбриональное состояние и способны к росту в течение длительного времени — до многих сотен лет у некоторых деревьев. Следовательно, мы можем рассматривать такие меристемы как *недетерминированные*.

Зоны роста других органов растения — листьев, цветков и плодов — отличаются от зон роста стеблей и корней тем, что могут оставаться эмбриональными только ограниченное время — до тех пор, пока орган не достигнет полного развития. Такие зоны роста иногда называют *детерминированными меристемами*. Характер роста этих органов сходен с характером роста животных, поскольку, во-первых, продолжительность их эмбриональной фазы ограничена и, во-вторых, они характеризуются более общим, чем у стеблей и корней, ростом.

Наличие недетерминированных меристем, а также способность к образованию ветвей, имеющих собственные апикальные меристемы, обуславливает намного менее точную и определенную форму тела растения по сравнению с формой тела животного. И в самом деле, тело растения по своей форме больше похоже на колонии кишечнополостных, таких, как кораллы, чем на тело любого высшего животного. Органы, характеризующиеся детерминированным ростом (листья и цветки), обычно имеют более определенную форму и совершенно определенное число частей, например лепестков.

Кроме деления меристем на детерминированные и недетерминированные существуют и другие классификации. Например, апикальные меристемы стеблей и корней отличаются от *латеральных меристем*, включающих камбий и феллоген (пробковый камбий). У некоторых растений имеются *интеркалярные меристемы*, расположенные между участками дифференцированных тканей. Прекрасным примером наличия такого типа

меристем являются злаки, где междоузлия и листовые влагалища продолжают нарастать основанием даже после того, как верхние части уже дифференцировались. Подробнее структура некоторых меристем будет рассмотрена в гл. 2.

1.3. ДЕЛЕНИЕ И ВАКУОЛИЗАЦИЯ КЛЕТОК

Рост любого многоклеточного растения включает такие процессы, как увеличение числа клеток за счет их деления, а также увеличение размеров клеток. Эти два аспекта роста не имеют четких пространственных границ, однако в апикальных зонах побегов и корней наиболее интенсивное деление происходит ближе к самой верхушке обоих органов, а зона наиболее быстрого увеличения размеров клеток находится в нескольких миллиметрах от нее (рис. 2.17). В органах с детерминированным ростом, например в листьях и плодах, эти два процесса разделены во времени. При этом в ранней фазе преобладает клеточное деление, а затем наступает фаза, в которой деление прекращается и происходит активное увеличение размеров клеток. Увеличение размеров в основном связано с вакуолизацией, т. е. оно происходит за счет поглощения воды, в результате чего цитоплазма сохраняется лишь в виде тонкого пристенного слоя.

Деление клетки включает репликацию всех клеточных органелл, из которых наиболее важной и наиболее изученной органеллой является ядро. Последовательные деления ядра, включающие образование хромосом и процесс митоза, чередуются с периодами, когда ядро, по-видимому, находится в состоянии покоя, называемого *интерфазой*.

В процессе митоза происходит удвоение числа хромосом, которые поровну распределяются между двумя дочерними клетками. Следовательно, количество ДНК должно быть удвоено на какой-то стадии до того, как во время профазы станут видны видимый двойной набор хромосом. Точную стадию синтеза ДНК можно определить двумя способами: 1) путем введения на различных стадиях роста в растительные ткани, например в ткань кончиков корней, радиоактивного тимидина (одного из оснований ДНК) и определения времени, в течение которого он включится в состав ДНК; 2) путем определения с помощью спектрофотометрии времени, в течение которого количество ДНК в ядре удвоится. Эти методики позволяют выявить стадию синтеза ДНК, обозначаемую как S-фаза. Периоды до и после S-фазы, во время которых не происходит синтеза ДНК, обозначаются как G₁- и G₂-периоды (рис. 1.1). Продолжительность G₁- и G₂-периодов в клетках различных типов может значительно варьировать.

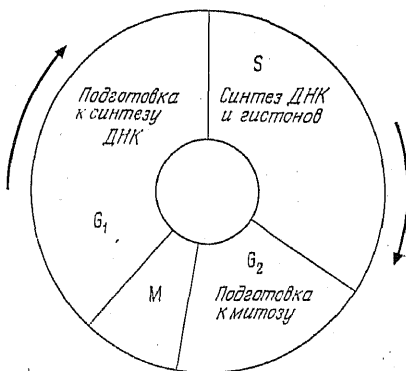
Во время интерфазы большая часть молекул ДНК находится в деспирализованном состоянии, но во время профазы митоза они становятся компактными и спирализованными, что происходит в результате изменений в связанных с ними белках, которые будут рассмотрены позднее (с. 449). После завершения митоза хромосомный материал деспирализуется и ядро входит в стадию интерфазы.

Во время деления клетки происходит репликация различных органелл, в том числе пластид и митохондрий. Простейшим типом пластиды является пропластида, из которой развиваются все типы пластид, включая хлоропласты. Пластиды представляют собой полуавтономные органеллы, способные к удвоению путем деления или почкования. В клетках высших растений может содержаться от нескольких до большого числа пластид, и клетки различных типов значительно отличаются друг от друга по содержанию в них пластид. Число пластид в клетках какого-либо одного типа обычно остается приблизительно постоянным, и это наводит на мысль, что репликация пластид происходит одновременно с делением клетки. Однако распределение пластид материнской клетки между дочерними происходит, по-видимому, случайным образом.

В верхушечных зонах корней и побегов, где преобладают клеточные деления, клетки относительно мелкие и имеют хорошо заметные сферические ядра, располагающиеся примерно в центре; цитоплазма не содержит вакуолей и обычно интенсивно окрашивается; клеточные стенки в этих зонах тонкие (рис. 2.3; 2.5). Каждая дочерняя клетка, образовавшаяся в результате деления, вдвое меньше родительской. Однако такие клетки продолжают увеличиваться в размерах, но в данном случае их рост происходит за счет синтеза цитоплазмы и материала клеточной стенки, а не за счет вакуолизации.

Поскольку число клеток в зоне клеточного деления остается строго постоянным (по крайней мере в течение определенного

Рис. 1.1. Схема митотического цикла. После митоза (М) дочерние клетки вступают в фазу G_1 , к концу которой происходит подготовка к синтезу ДНК. Синтез ДНК и гистонов происходит в следующей S-фазе; в это же время происходит репликация хромосом, в результате чего содержание ДНК в клетке удваивается. Затем клетка вступает в фазу G_2 , представляющую собой период подготовки к митозу, включающий конденсацию хромосом.



периода), очевидно, что не все образовавшиеся дочерние клетки сохраняют способность к последующему неограниченному делению. Это легко проиллюстрировать на растениях, рост которых обусловлен делением одной апикальной клетки; к числу таких растений относятся некоторые водоросли и мхи, а также отдельные представители папоротникообразных (рис. 13.13). У этих растений в результате деления апикальной клетки образуются две клетки, причем одна из них вновь становится апикальной, а вторая, расположенная на проксимальной стороне, дает начало дифференцирующимся тканям таллома или стебля. Эта последняя клетка обычно делится несколько раз, но в конечном итоге производные клетки теряют способность к делению. Таким образом, если апикальная клетка остается постоянно меристематической, то производные клетки сохраняют способность только к ограниченному числу последующих делений. Аналогичная ситуация должна наблюдаться и в более сложных апексах голосеменных и покрытосеменных, состоящих обычно из большого числа инициальных клеток, т. е. клеток, остающихся меристематическими и многократно делящихся; однако здесь намного труднее установить, какие из дочерних клеток будут вновь меристематическими, а какие дадут начало постоянным тканям. Вопрос о том, почему клетки в инициальной зоне остаются эмбриональными, или меристематическими, тогда как производные клетки на проксимальной стороне обладают способностью только к ограниченному числу последующих делений, вызывает постоянный интерес, но ответ на него до сих пор еще не получен.

На определенном расстоянии от апекса как у побегов, так и у корней начинается процесс вакуолизации, в результате чего, например, корневые клетки лука могут удлиниться от 17 до 30 мкм и увеличиться в объеме в 30 раз. В других тканях в процессе вакуолизации клетки могут увеличиваться в 150 раз по сравнению с первоначальным объемом. Представляется вероятным, что столь значительное поглощение воды обусловлено в основном осмотическим процессом, и если применить обычную концепцию поглощения воды клеткой, то способность клетки поглощать воду будет выражена через водный потенциал (ψ), который равен осмотическому потенциалу (π) вакуолярного раствора плюс давление клеточной стенки или тургорное давление (p), т. е. $\psi = p + \pi$. Из этого следует, что поглощение воды зависит от изменения осмотического потенциала или изменения давления стенки или же от обоих этих параметров. При изучении изменений осмотического давления вакуолярного раствора в процессе роста не было получено никаких данных об изменении осмотического потенциала. В самом деле, поскольку в процессе роста вакуолярный сок сильно разбавляется, в вакуоль для поддержания осмотического потенциала

на постоянной величине должны поступать значительные количества добавочных осмотически активных веществ, таких, как сахара, соли, органические кислоты и т. д. В некоторых органах осмотический потенциал вакуоли может действительно повышаться за счет разбавления во время этой фазы роста. Так, в черешках *Victoria regia*, которые за 24 ч могут удлиняться от 9 до 68 см, осмотический потенциал во время фазы растяжения возрастает не менее чем на половину своего исходного значения. Вместе с тем вполне очевидно, что в вакуолизирующихся клетках тургорное давление снижается за счет повышения пластичности клеточной стенки, происходящего в это время (с. 136). В результате такого повышения пластической растяжимости клетка в процессе вакуолизации подвергается необратимому удлинению.

Хотя основное увеличение объема клетки в процессе вакуолизации происходит за счет поглощения воды, в этот период продолжается активный синтез новой цитоплазмы и вещества клеточной стенки, так что сухой вес клетки также увеличивается. Таким образом, процесс роста клетки, начавшийся до вакуолизации, продолжается и во время этой фазы. Кроме того, зоны клеточного деления и вакуолизации не имеют четкого разграничения и как в побегах, так и в корнях многих видов растений деление происходит в клетках, которые начали вакуолизироваться. Деление также может происходить в вакуолизированных клетках пораненных тканей. В кончиках корней зоны деления и вакуолизации разграничены более четко, и деление вакуолизированных клеток происходит значительно реже.

Поскольку рост связан с различными эндогенными, т. е. требующими затрат энергии, процессами, например синтезом белка, не удивительно, что для быстро удлиняющихся тканей корня характерна высокая интенсивность дыхания по сравнению с интенсивностью дыхания равного объема недеющейся ткани, хотя при пересчете на 1 клетку интенсивность дыхания зрелых клеток может быть значительно выше, чем меристематических, поскольку последние меньше по размерам и содержат меньше цитоплазмы. Кроме того, рост требует аэробных условий и адекватного снабжения углеводами, служащими источником энергии и строительным материалом.

Роль фитогормонов в делении и растяжении клетки будет рассмотрена ниже.

1.4. РОСТ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК

Электронно-микроскопические исследования показали, что в основе клеточной стенки высших растений лежит остов из целлюлозных микрофибрилл. Молекула целлюлозы представляет

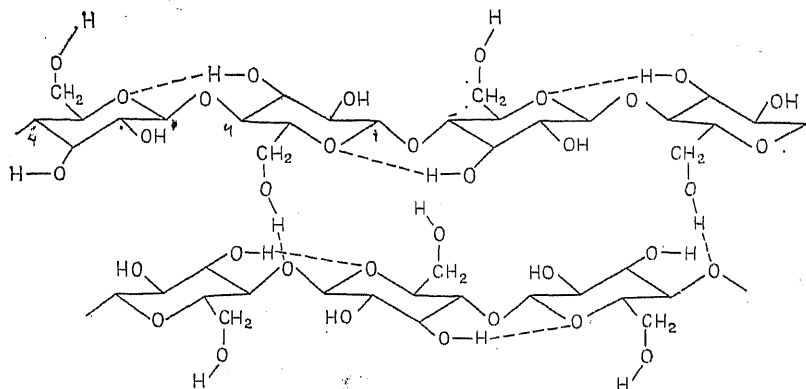


Рис. 1.2. Цепи целлюлозы, в которых глюкозные единицы соединены $\beta(1 \rightarrow 4)$ -связями. Показаны водородные связи между соседними цепями и внутримолекулярная связь между глюкозными единицами в одной цепи. (W. D. Bauer, The Molecular Biology of Plant Cells, (ed.) H. Smith, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1977.)

собой длинную линейную цепь, состоящую из глюкозных единиц, соединенных $\beta(1 \rightarrow 4)$ -связями. Агрегируя, эти цепи образуют микрофибриллы. Агрегация происходит строго упорядоченным образом, и цепи лежат параллельно одна другой, вследствие чего микрофибриллы имеют паракристаллическую структуру. Цепи связаны друг с другом водородными связями через гидроксильные группы в положении 6 одной цепи и гликозидными кислородами (O_5) в соседней цепи; соседние глюкозные единицы одной цепи соединены также внутримолекулярными связями между гидроксильными группами в положении 3 и кислородными мостиками (рис. 1.2). Такие структурные особенности придают микрофибриллам значительную прочность.

Микрофибриллы погружены в матрикс из нецеллюлозных полисахаридов, которые включают фракции, составляющие остатки пентоз (5-углеродные сахара) — *арабинозы* и *ксилозы* и гексоз (6-углеродные сахара) — *глюкозы*, *галактозы* и *маннозы*. Молекулы ксилоглюканов представляют собой цепи, образованные глюкозными остатками, связанными по $\beta(1 \rightarrow 4)$ -типу с многочисленными ксилозными боковыми цепями, тогда как арабиногалактаны имеют линейные разветвленные цепи (рис. 1.3). Кроме указанных полисахаридов, которые раньше назывались гемицеллюлозами, существуют другие полисахариды, в большом количестве содержащие галактуроновую кислоту и называемые ранее пектинами. Первичные клеточные стенки содержат также структурный белок с высоким содержанием необычной аминокислоты гидроксипролина.

Хотя вопрос о том, каким путем происходит объединение различных компонентов клеточной стенки, остается еще спор-

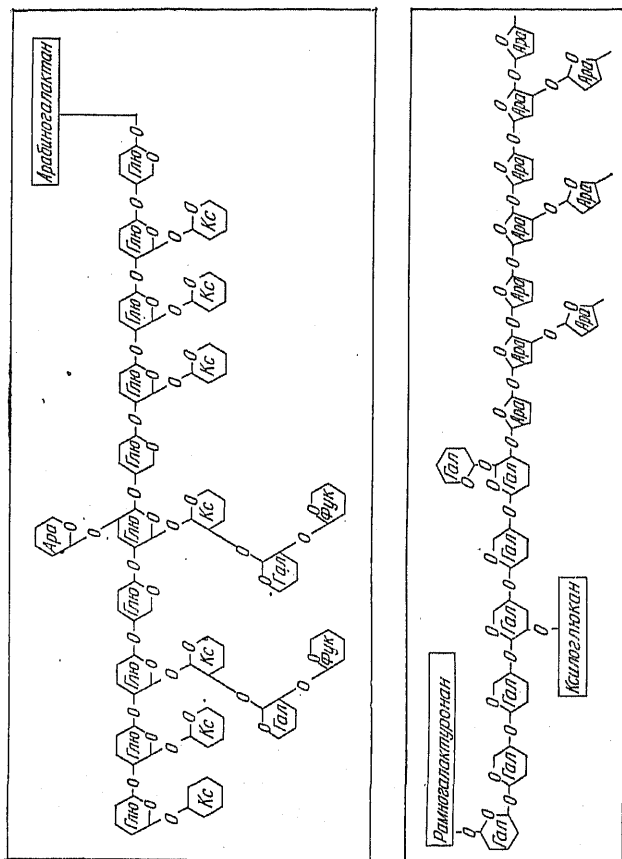


Рис. 1.3. Предлагаемая структура ксилотектана и арабиногалактана, выделенных из каллуса явора (по Albersheim).
 Кс — ксилоза;
 Фук — фукоза;
 Гал — галактоза;
 Ара — арабиноза;
 Глю — глюкоза.

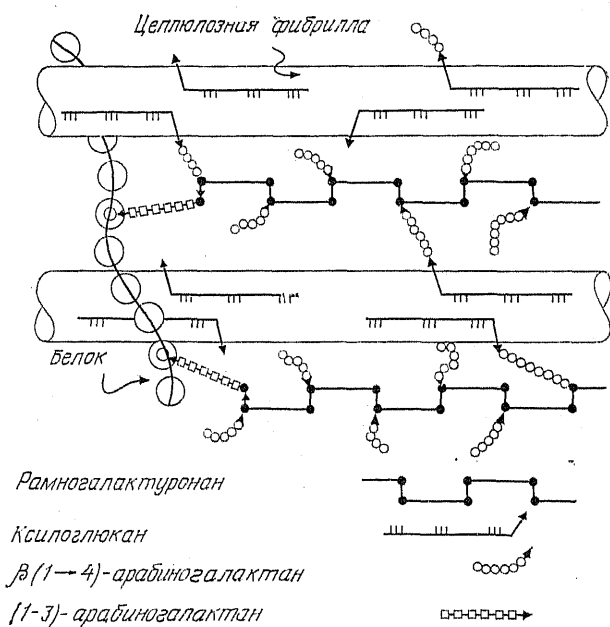


Рис. 1.4. Схема полимерных компонентов первичных клеточных стенок у явора и их взаимосвязи. Ксиланоглюканы закристаллизованы с целлюлозно-глюкановыми цепями на поверхности микрофибрилл. Некоторые восстанавливающие концы ксиланоглюканов с помощью глюкозидных связей прикреплены к боковым цепям, связанным по $\beta(1 \rightarrow 4)$ -типу, рамногалактуронановых цепей, которые сами прикрепляются к структурным белкам. (W. D. Bauer, *The Molecular Biology of Plant Cells*, (ed.) H. Smith, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1977.)

ным, ясно, что это объединение обусловлено как ковалентными, так и нековалентными взаимодействиями между компонентами. Ксиланоглюканы с помощью водородной связи присоединяются к цепям целлюлозы, и, кроме того, они могут присоединяться посредством арабиногалактана к рамногалактуронану. Рамногалактуронан может также быть связан с белками клеточной стенки посредством арабиногалактана другого типа. Схематическое изображение такой клеточной стенки показано на рис. 1.4. Данное описание применимо только к двудольным, так как клеточные стенки однодольных хотя и имеют много общего, тем не менее отличаются по природе компонентов матрикса.

Формирование новой клеточной стенки между двумя дочерними клетками следует за митотическим делением ядра и начинается с появления большого числа пузырьков в экваториальной плоскости веретена. Эти пузырьки образуются тельца-

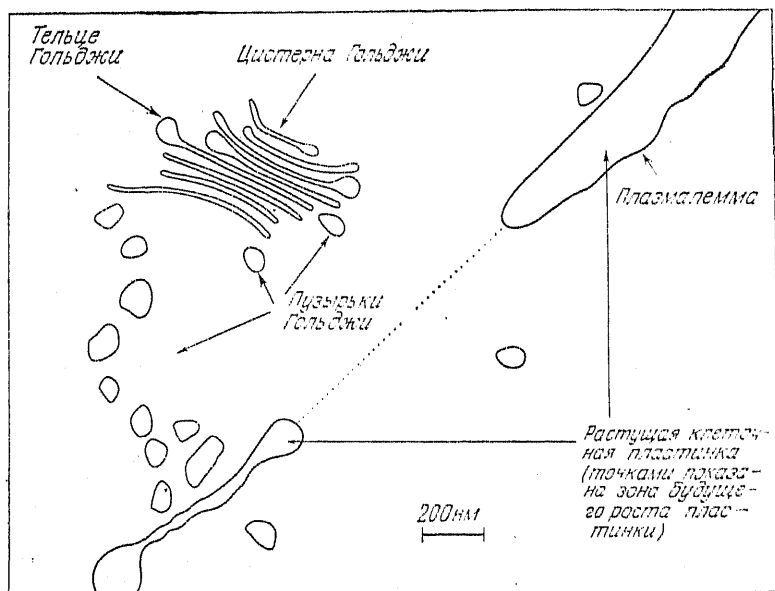


Рис. 1.5. Образование клеточной пластинки путем слияния телец Гольджи. (Bryant, 1976.)

ми Гольджи и, по-видимому, содержат полисахариды, из которых на первой стадии развития новой клеточной стенки за счет слияния пузырьков образуется так называемая клеточная пластинка (рис. 1.5). Вначале клеточная пластинка появляется в центре клетки, а затем в результате добавления новых пузырьков и их содержимого из телец Гольджи, лежащих по периферии пластинки, ее края распространяются кнаружи до тех пор, пока не соединятся с боковыми стенками. Мембраны пузырьков Гольджи сливаются, образуя новую плазмалемму каждой дочерней клетки. Цитоплазма обеих дочерних клеток остается связанной при помощи мембранных тяжей, проходящих через клеточную оболочку и называемых плазмодесмами.

Весьма вероятно, что полисахариды, входящие в состав первого слоя новой клеточной стенки (срединную пластинку), который содержит большое количество галактуроновой кислоты, синтезируются тельцами Гольджи. После образования срединной пластинки на каждой ее стороне происходит формирование микрофибрилл целлюлозы. Так возникает первичная клеточная стенка.

Как и при формировании клеточной пластинки, большая часть нецеллюлозного материала, использующегося для дальнейшего формирования первичной клеточной стенки, синтезируется аппаратом Гольджи, а затем этот материал транспорти-

руется через цитоплазму и плазмалемму внутрь клеточной стенки. Целлюлозные же микрофибриллы образуются на внутренней поверхности стенки, прилегающей к плазмалемме. По-видимому, ферменты, принимающие участие в биосинтезе целлюлозы, локализованы на мембранах аппарата Гольджи и начинают функционировать, когда пузырьки сливаются с плазмалеммой.

В клетках, удлиняющихся во время вакуолизации, микрофибриллы вначале уложены под прямым углом к оси удлинения (т. е. поперечно), но во время растяжения стенок микрофибриллы переориентируются так, что оказываются лежащими преимущественно вдоль продольной оси. Однако в процессе роста на внутренней стороне стенки добавляются новые поперечные микрофибриллы, так что на поперечном срезе клеточной стенки при рассмотрении его от внутренней к наружной стороне можно обнаружить постепенный переход от поперечной к продольной ориентации микрофибрилл (рис. 1.6). В клетках, которые в процессе роста не удлинняются, но остаются изодиаметрическими, микрофибриллы, по-видимому, укладываются беспорядочно.

Что регулирует ориентацию микрофибрилл в клетках того или иного типа, неизвестно, но обнаружено, что обычно они располагаются параллельно некоторым *микротрубочкам*, которые, как предполагает их название, представляют собой вытянутые цилиндрические структуры диаметром 23—27 нм, располагающиеся в пограничных слоях цитоплазмы. Кроме того, обработка колхицином, разрушающим микротрубочки, также нарушает упорядоченное расположение микрофибрилл, но не мешает их образованию. По-видимому, микротрубочки каким-

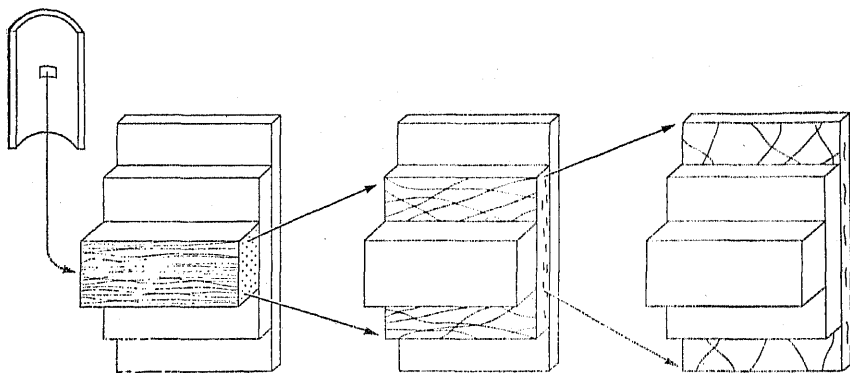


Рис. 1.6. Многослойный рост клеточной стенки. Видна (слева направо) переориентация микрофибрилл как последовательные стадии клеточного растяжения. (P. A. Roelofsen, Adv. Bot. Res. 2, 69—150.)

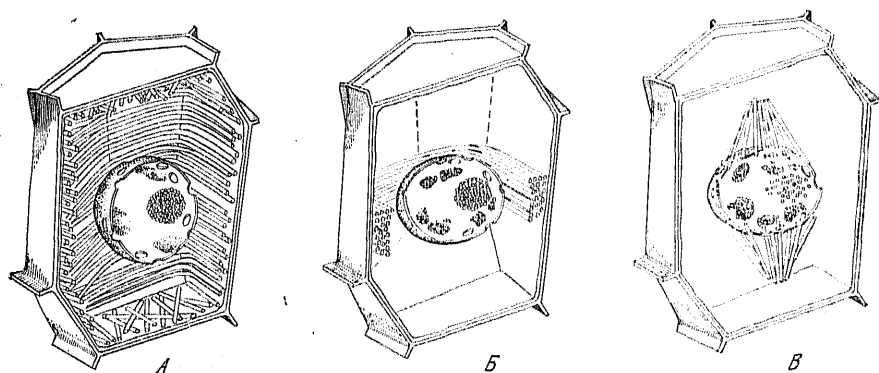


Рис. 1.7. Схема, иллюстрирующая изменение положения микротрубочек во время деления клетки. (Symposium Int. Soc. Cell. Biol., 6, 1967.)

то неизвестным путем регулируют ориентацию целлюлозных микрофибрилл, синтезирующихся в клетке.

Микротрубочки играют также какую-то роль в определении того, где будет формироваться клеточная пластинка и где она сольется со стенкой родительской клетки. В покоящихся клетках микротрубочки лежат в периферической цитоплазме в непосредственной близости от плазмалеммы. В клетках, в которых должно начаться деление, но ядро еще не вступило в профазу, такие «пристеночные микротрубочки» исчезают, а в периферической цитоплазме вблизи продольных стенок появляется состоящий из большого числа трубочек тяж, который располагается под прямым углом к оси клетки (рис. 1.7). Этот «препрофазный тяж» огибает цитоплазму по периферии в средней части клетки. Когда клеточная пластинка полностью разовьется, она сливается с боковыми стенками родительской клетки так, что делит этот препрофазный тяж почти равномерно между двумя дочерними клетками. Следовательно, можно считать, что препрофазный тяж фактически предопределяет положение и ориентацию клеточной пластинки.

В процессе роста клетка подвергается стрессу, вызываемому тургорным давлением. Повышение пластичности клеточной стенки во время вакуолизации, о чем уже говорилось ранее, указывает на то, что во время роста стенки разные типы химических связей, удерживающих различные компоненты стенки, разрушаются, возможно, в результате активности гидролитических ферментов (с. 137).

1.5. ДИФФЕРЕНЦИРОВКА КЛЕТОК

На клеточном уровне термин дифференцировка иногда используется в двух различных значениях, а именно: 1) он может быть применен к развитию различных специализированных

типов зрелых клеток в пределах органа или ткани или 2) может быть использован применительно к изменениям, которые происходят в процессе превращения меристематической клетки в зрелую и обычно включают вакуолизацию и увеличение размеров клетки. В этой книге мы будем использовать термин *дифференцировка* в его первом значении, а для процессов, приводящих к образованию зрелой клетки из меристематической, будем использовать термин *созревание*.

Обычно созревание включает вакуолизацию и увеличение размеров клетки; некоторые аспекты этого процесса уже были рассмотрены ранее (с. 17—21). В процессе созревания клетки могут претерпевать как относительно небольшие структурные изменения, например при образовании паренхимной ткани, так и значительные — при формировании тканей ксилемы и флоэмы. Именно различные пути созревания клеток приводят к их дифференцировке.

Помимо видимых изменений, связанных с дифференцировкой, происходят также биохимические изменения. Некоторые из них будут описаны далее (с. 29).

Кроме биохимических изменений на молекулярном уровне и структурных изменений, видимых в обычный световой микроскоп, с помощью электронного микроскопа можно обнаружить изменения, происходящие на ультраструктурном уровне. При электронно-микроскопическом исследовании различных типов растительных тканей было обнаружено, что в общем живые дифференцированные клетки высших растений содержат нормально развитые клеточные органеллы, такие, как митохондрии, тельца Гольджи (диктиосомы), пластиды и эндоплазматический ретикулум. Однако есть и исключения, например в клетках ситовидных трубок во время дифференцировки большинство органелл подвергается дезинтеграции. Число и структура митохондрий также значительно варьируют в различных типах клеток, а тельца Гольджи находятся в активном или покоящемся состоянии в зависимости от фазы роста клеточной стенки, секреции и т. д. Обилие и локализация эндоплазматического ретикулума может варьировать в некоторых специализированных типах клеток, особенно в клетках, связанных с секрецией. Наибольшая вариабельность характерна для пластид. Их структура чрезвычайно разнообразна в зависимости от того, находятся ли они в тканях листа, запасающих тканях, плодах (например, томата) или частях цветка, таких, как лепестки.

1.6. ПЛАСТИДЫ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА КЛЕТОК

Зрелые пластиды развиваются из пропластид — мелких структур, содержащихся в меристематических и других клетках. Пропластиды, по-видимому, размножаются делением, и их

распределение между дочерними клетками происходит во время деления клетки. Зрелые пластиды могут быть нескольких типов: 1) *хлоропласты*, в которых доминирующим пигментом является хлорофилл, хотя могут присутствовать также и каротиноиды, такие, как ксантофилл; 2) *хромопласты*, содержащие очень мало хлорофилла или не содержащие его вовсе, вследствие чего каротиноиды, имеющие желтый, оранжевый или красный цвета, становятся видимыми, обуславливая характерную окраску некоторых цветков, плодов и осенних листьев; и 3) *лейкопласты*, которые не содержат пигментов и биохимически специализированы к синтезу запасных продуктов, таких, как крахмал (*амилопласты*) или жиры (*элайопласты*).

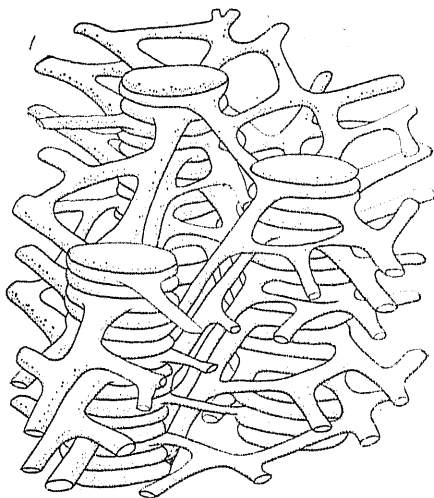


Рис. 1.8. Трехмерная модель гран, связанных мембранной системой в хлоропласте высшего растения. (Т. Е. Weir et al., *Ultrastructural Res.*, 8, 122, 1963.)

У водорослей хлоропласты могут иметь самую разнообразную форму и размеры, а у высших растений они очень однородны по своей форме. Эти пластиды окружены двойной мембраной и состоят из бесцветного жидкого матрикса (*стромы*) с находящейся в нем сложной системой уплощенных мембранных пузырьков, известных как *тилакоиды*, которые объединяются в стопки (*граны*). Тилакоиды имеют округлые очертания и соединяются с тилакоидами в другой грани посредством связующих мембран (рис. 1.8). Мембраны тилакоидов состоят из липидов и белков, к которым присоединяется хлорофилл.

Для развития хлоропластов из пропластид обычно необходим свет. Развитие происходит путем отшнуровывания от внутренней мембраны уплощенных пузырьков, образующих сплюснутую, окруженную двойной мембраной пластинку тилакоидов, в которых в конечном итоге синтезируется хлорофилл. Однако если проросток постоянно содержится в темноте, то пузырьки не образуют нормальных тилакоидов, а материал накапливается частично в виде уплощенных пластов, а частично в виде структуры, известной под названием *проламеллярное тело* (рис. 1.9), которое состоит из трубочек, организованных в трехмерную паракристаллическую решетку. Пластиды, которые развиваются таким образом, называются *этиопластами*.

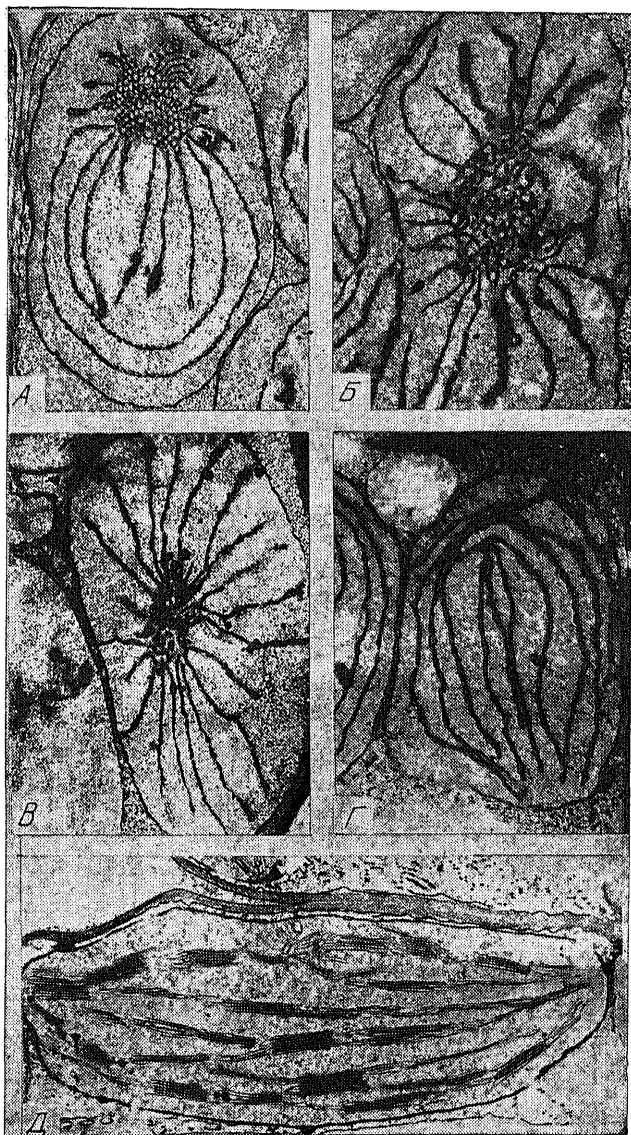


Рис. 1.9. Стадии развития хлоропласта в процессе позеленения первых листьев у 14-дневной выращенной в темноте фасоли при освещении $3 \text{ МВт} \cdot \text{см}^{-2}$; $\times 25\,000$. (J. W. Bradbeer, *The Molecular Biology of Plant Cells*, (ed.) H. Smith, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1977.)

Обратите внимание на постепенное исчезновение проламеллярного тела (А), по мере того как система тилакоидов развивается до зрелого состояния, представленного на фото Д.

А. Без освещения. Б. 105 мин освещения. В. 4 ч освещения. Г. 5 ч освещения. Д. 48 ч непрерывного освещения.

Если выращенные в темноте сеянцы подвергнуть действию света, то быстро происходят заметные изменения: проламеллярное тело и мембранные пласты распадаются, а их материал, реорганизуясь, образует нормальные хлоропласты, характерные для растущего на свету листа, в которых происходит синтез хлорофилла (рис. 1.9).

1.7. КЛЕТОЧНАЯ СТЕНКА И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА

Многие различия между типами тканей обусловлены строением клеточной стенки, особенно *вторичной*. Как мы уже говорили, образование первичной клеточной стенки происходит в процессе растяжения клетки, и, следовательно, она должна обладать свойством растяжимости, тогда как вторичная стенка формируется уже после того, как удлинение прекратилось.

Формирование вторичной стенки включает активный синтез целлюлозы и пониженный уровень образования материала матрикса. Если в первичной стенке микрофибриллы чаще всего лежат беспорядочно или вначале ориентированы поперечно направлению удлинения, то во вторичной стенке ориентация микрофибрилл строго упорядочена (рис. 1.10).

В очень длинных клетках, например волокнах, микрофибриллы ориентированы параллельно главной оси клетки, тогда

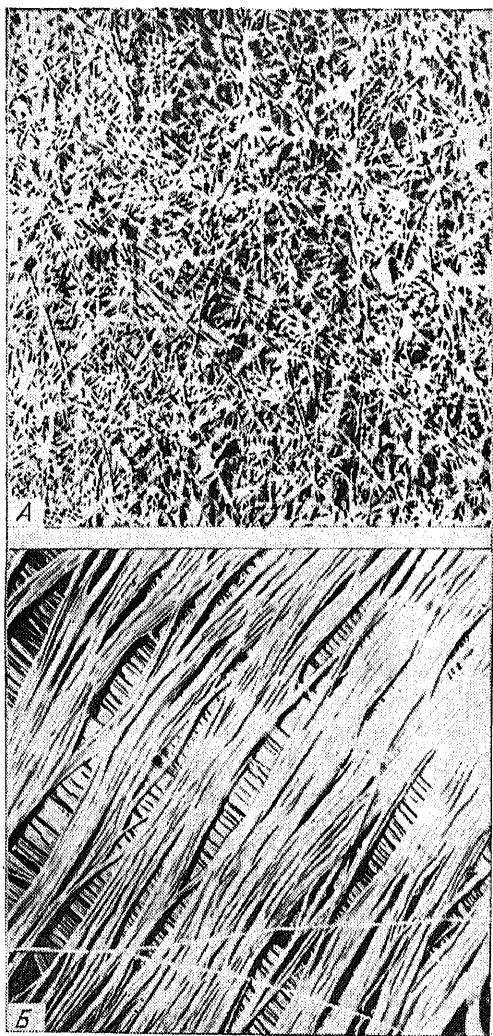


Рис. 1.10. А. Электронная микрофотография структуры первичной стенки в клетках дуба крупночешуйчатого; $\times 8000$. Б. То же, но вторичной стенки; $\times 7000$. (F. S. Steward, K. Mühlethaler, Ann. Bot. S., 17, 295, 1953.)

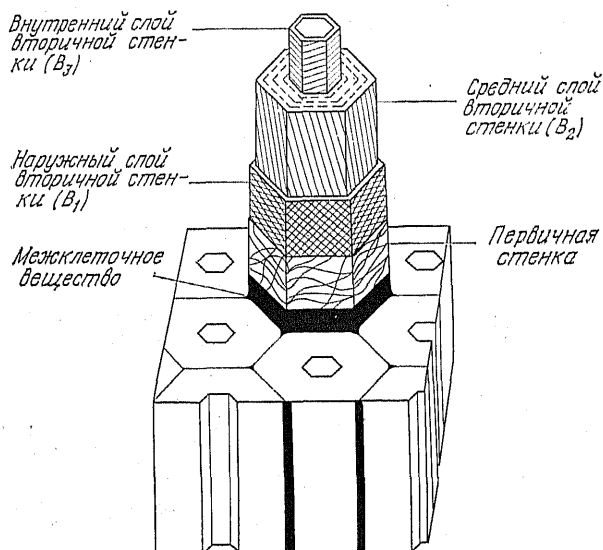


Рис. 1.11. Структура вторичной клеточной стенки древесного волокна. (A. B. Wardrop, D. E. Bland, Proc. 4th International Congress of Biochem., 2, 96, 1959.)

как в других клетках, например трахеидах хвойных, они ориентированы под углом к оси клетки и часто можно обнаружить два или три отчетливых слоя, различающихся по ориентации микрофибрилл, располагающихся иногда крест-накрест (рис. 1.11). В широких клетках большого диаметра, таких, как сосудистые элементы, микрофибриллы ориентированы под прямым углом к продольной оси.

Как и при развитии первичной клеточной стенки, ориентация микрофибрилл во вторичной стенке, по-видимому, контролируется микротрубочками, лежащими в наружном слое цитоплазмы, поскольку между ориентацией этих двух структур часто наблюдается тесная взаимосвязь. Микротрубочки и эндоплазматический ретикулум входят в локальные отложения вторичной стенки, которые можно наблюдать в сосудистых элементах ксилемы в виде различных утолщений. В процессе роста первичной стенки микротрубочки располагаются близко к плазмалемме, покрывая всю поверхность клетки, но в конце роста первичной стенки в клетках, дифференцирующихся в сосудистые элементы, микротрубочки собираются в группы. В тех участках клеточных границ, где микротрубочки отсутствуют, вблизи плазмалеммы концентрируется эндоплазматический ретикулум (рис. 1.12). Вторичная стенка образуется в тех местах, где имеются микротрубочки, тогда как в участках,

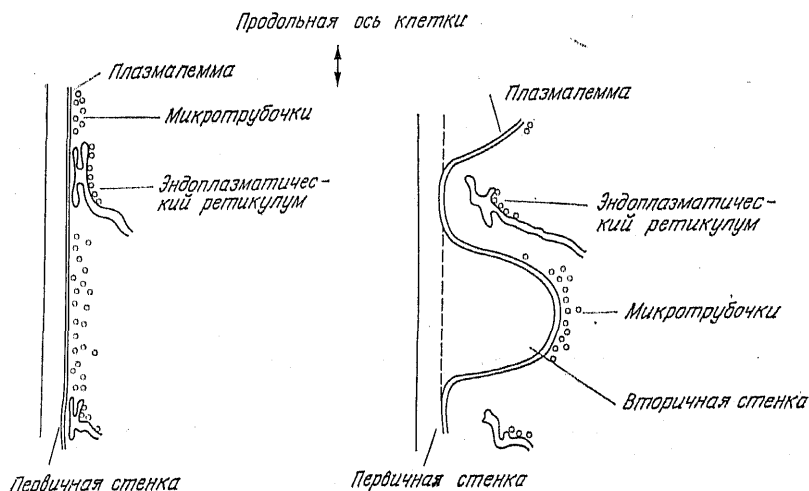


Рис. 1.12. Схема, иллюстрирующая отношение между эндоплазматическим ретикулом и типом отложения вторичной стенки в элементах сосудов ксилемы. (Bryant, 1976.)

занятых эндоплазматическим ретикулом, образования ее не происходит. В связи с этим полагают, что эндоплазматический ретикулум препятствует синтезу вторичной стенки. Таким путем происходит утолщение стенки в ксилемных клетках.

В клетках многих типов образование вторичной стенки сопровождается лигнификацией. Лигнин представляет собой полимер, первичными структурными элементами которого являются фенилпропановые спирты, такие, как конифериловый, синаповый и *p*-гидроксициннамиловый. Лигнин откладывается по всей толщине вторичной стенки и в некоторых случаях может проникать даже в первичную стенку.

После образования вторичной стенки связь между соседними клетками осуществляется через тонкие цитоплазматические тяжи — плазмодесмы, пронизывающие стенки. Во многих клетках они беспорядочно распределены по стенке, часто в огромных количествах (20 000 на 1 м²). В первичной стенке некоторых клеток плазмодесмы объединяются группами в виде первичных поровых полей. В таких поровых полях не происходит образования вторичной стенки, что обеспечивает поддержание взаимосвязи между клетками. У некоторых видов растений в трахеидах и сосудах ксилемы вторичная стенка может простирается за края порового поля, нависая над ним, в результате чего образуется окаймленная пора.

1.8. ВОЗНИКНОВЕНИЕ РАЗЛИЧИЙ МЕЖДУ КЛЕТКАМИ

Одна из центральных проблем развития касается природы процессов, обуславливающих расхождение путей дифференцировки клеток одной и той же линии. К таким процессам относится *неэквивалентное* или *асимметрическое деление* родительской клетки, приводящее к образованию двух дочерних клеток, пути дифференцировки которых впоследствии расходятся. Этот процесс хорошо иллюстрируется на примере формирования корневых волосков у некоторых злаков. В процессе дифференцировки корней можно заметить, что в отдельных эпидермальных

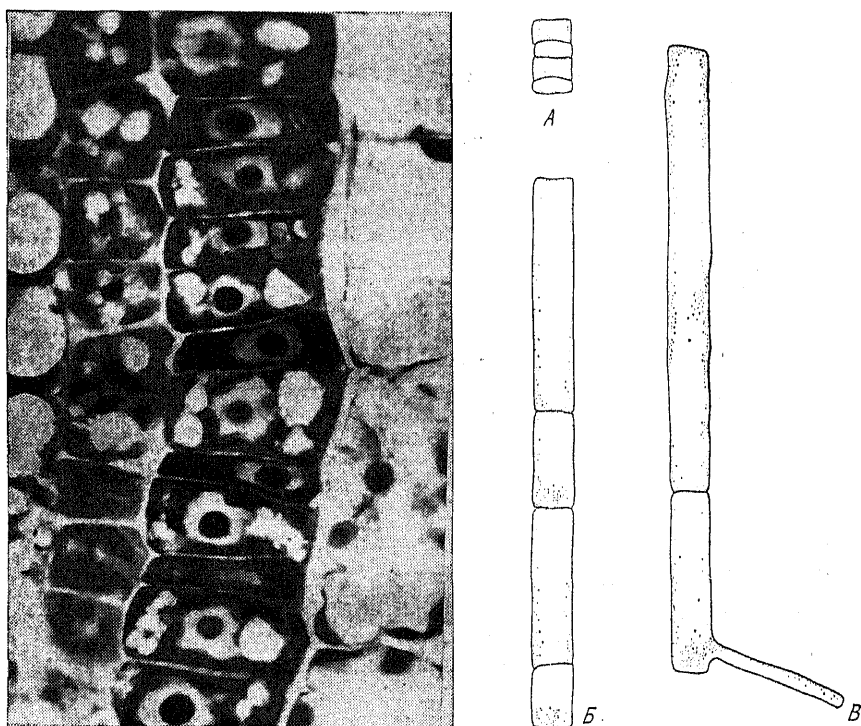


Рис. 1.13. Слева. Формирование трихобластов (клеток, образующих корневые волоски) в эпидерме корня *Hydrocharis morsus-ranae*. В результате неэквивалентного деления образуются маленькие клетки — трихобласты и большие — эпидермальные клетки. (E. G. Cutter, L. J. Feldman, Amer. J. Bot., 57, 190—201, 1970.)

Справа. Последовательные стадии развития (A—B) инициальных клеток корневых волосков у тимopheевки луговой (*Phleum pratense*). Меньшие клетки (A), образовавшиеся в результате неэквивалентного деления, дают начало клеткам корневых волосков (B). (E. W. Sinnott, R. Bloch, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 26, 223—227, 1939.)

клетках, расположенных так, что их продольная ось параллельна оси корня, цитоплазма на дистальном конце более густая, тогда как на проксимальном конце она вакуолизирована. В процессе митоза поперечная клеточная стенка формируется таким образом, что получаются две клетки: меньшая дочерняя клетка с густой цитоплазмой и большая — с менее густой цитоплазмой (рис. 1.13). Меньшая клетка затем развивается в корневой волосок, тогда как большая становится обычной эпидермальной клеткой.

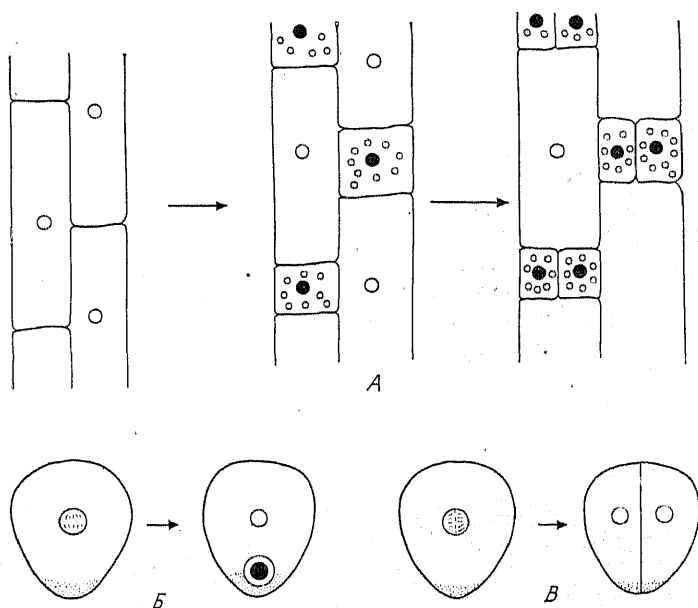


Рис. 1.14. А. Неэквивалентное деление при формировании замыкающих клеток устьица в листе однодольного растения. После неэквивалентного деления эпидермальных клеток образуются меньшая устьичная материнская клетка (черное ядро) и большая клетка (белое ядро). Хлоропласты развиваются в устьичной материнской клетке, которая вновь делится, причем плоскость этого деления располагается под прямым углом к плоскости первого деления. Образующиеся в результате дочерние клетки развиваются в замыкающие клетки устьица. Б, В. Развитие пыльцевого зерна.

Б. Нормальное развитие. После деления ядра одно из дочерних ядер перемещается в тот конец клетки, где цитоплазма характеризуется наибольшей плотностью, и становится генеративным. Другое дочернее ядро становится вегетативным.

В. Аномальное развитие. Ядро делится под прямым углом к плоскости, в которой обычно происходит нормальное деление ядра. В результате дочерние ядра остаются в одинаковой по плотности цитоплазме, что приводит к формированию двух одинаковых клеток; тем самым нарушается последующее нормальное развитие пыльцевого зерна. (E. Bünning, Handbuch Protoplasmaforschung, vol. VII, Vienna, 1958.)

Сходное явление наблюдается и при развитии замыкающих клеток устьица у некоторых однодольных. Здесь также отдельные эпидермальные клетки развивающегося листа подвергаются неэквивалентному делению с образованием маленькой клетки с интенсивно окрашивающейся цитоплазмой на одном конце и большей — на другом (рис. 1.14). Меньшая клетка становится устьичной материнской клеткой, и после следующего эквивалентного деления, которое происходит под прямым углом к плоскости первого деления, формируются две дочерние клетки, дающие начало замыкающим клеткам. Таким образом, если в цитоплазме родительской клетки появляются полярные различия вдоль продольной оси, то происходит неэквивалентное деление, приводящее к образованию разных дочерних клеток, если же плоскость деления разделяет цитоплазму на две равные части, то возникающие дочерние клетки будут идентичными.

Тот факт, что неэквивалентное деление вызывается полярными различиями в цитоплазме, можно проиллюстрировать на примере развития пыльцевых зерен, у которых веретено деления ориентируется таким образом, что одно из дочерних ядер перемещается в конец клетки с более густой цитоплазмой и становится генеративным, тогда как дочернее ядро перемещается в зону клетки с менее густой цитоплазмой и становится вегетативным (рис. 1.14, Б). При определенных обстоятельствах плоскость веретена может оказаться ориентированной *поперек* оси материнской пыльцевой клетки, и тогда две образующиеся клетки будут одинаковыми, а дальнейшее развитие пыльцевого зерна нарушается.

Пока неизвестно, как возникают полярные различия в цитоплазме, однако, по-видимому, сам процесс деления приводит к появлению полярности, поскольку конец дочерней клетки со стороны экватора веретена отличается по распределению органелл от конца клетки со стороны полюса веретена.

В большей части рассмотренных примеров клетки, возникшие в результате неэквивалентного деления, не подвергаются дальнейшему делению, а приступают к дифференцировке. Однако в некоторых случаях образовавшиеся после неэквивалентного деления клетки могут подвергаться нескольким последующим делениям. Рассмотрим в качестве примера секреторные клетки клещевины обыкновенной (*Ricinus communis*), содержащие таннин и ненасыщенные жирные кислоты. Эти клетки образуются в результате первоначального неэквивалентного деления, а затем одна из дочерних клеток претерпевает серию делений, давая начало ряду клеток, каждая из которых становится секреторной. Следовательно, в некоторых случаях различное состояние клетки, по-видимому, может меняться в зависимости от ее происхождения.

1.9. ПОЛЯРНОСТЬ КЛЕТОК

Растениям присуща весьма характерная форма, и одна из особенностей этой формы — наличие типичной, хорошо развитой продольной *оси*, несущей латеральные органы, такие, как листья и цветки. Различия, возникающие вдоль этой оси, выражаются в том, что два ее конца не одинаковы — например, ось растения обычно дифференцируется на одном конце в побег, а на другом в корень. В связи с этим говорят, что ось проявляет *полярность*, которую можно определить как «некую ситуацию, когда два противоположных конца или поверхности какой-либо живой системы различны». Полярность оси растения легче всего обнаруживается по морфологическим различиям, но также может выражаться и в некоторых физиологических свойствах, таких, как базипетальный «полярный» транспорт ауксинов в стеблях и регенерация почек на верхнем, а корней на нижнем конце отрезка корня (рис. 1.15).

Хотя осевая полярность является одной из наиболее характерных черт тела растения, нельзя забывать, что существ-

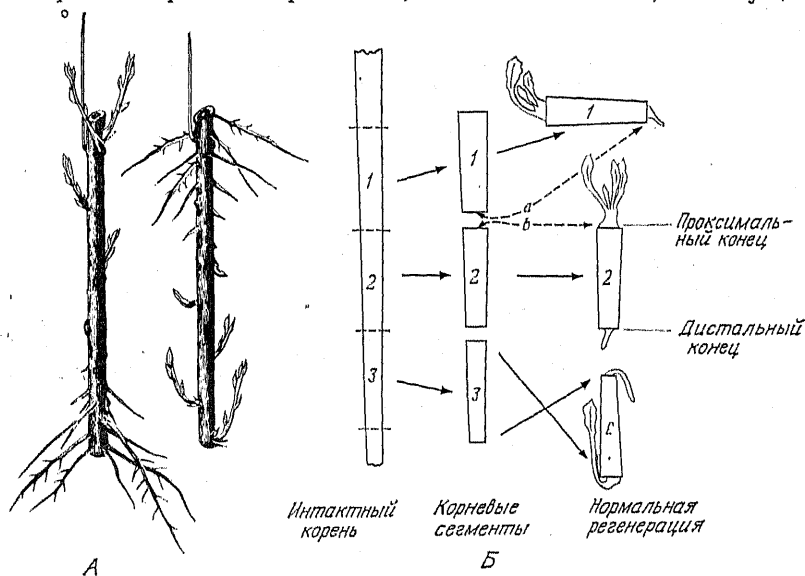


Рис. 1.15. А. Полярность регенерации у черенков ивы. Слева. Черенок, подвешенный во влажной атмосфере при нормальной ориентации. Справа. Тот же черенок, но в перевернутом положении. Независимо от ориентации корни образуются на морфологически нижнем, а побеги — на морфологически верхнем конце. (Pfeffer's Physiology of Plants, 2nd ed., Clarendon Press, Oxford, 1903.) Б. Полярность регенерации у сегментов корней одуванчика и цикория. Почки развиваются на проксимальном конце (т. е. наиболее удаленном от кончика корня), а корни — на дистальном независимо от ориентации сегментов. (H. E. Warmke, G. L. Warmke, Amer. J. Bot., 37, 272, 1950.)

вуют и другие формы полярности. Например, *дорсовентральность* листьев, выражающуюся в различиях между верхней и нижней сторонами листа, можно рассматривать как одну из форм полярности. У сферических тел с той или иной степенью радиальной симметрии, например у клеток хлореллы или плодов яблони, может также наблюдаться радиальная полярность, но между внутренним и наружным слоями будут существовать различия в отношении как химического состава, так и структуры. В дальнейшем обсуждении мы будем касаться почти исключительно осевой полярности и термин «полярность» будет использоваться именно в этом смысле, если только не будет сделано особых оговорок.

Поляризация тела высшего растения на побег и корень начинается с первого неэквивалентного деления зиготы (с. 40), и ось полярности зиготы, по-видимому, детерминируется ее положением относительно окружающих материнских тканей, поскольку будущий «корневой» конец всегда обращен к микропиле, а «стеблевой» — в противоположную сторону. Однако у бурой морской водоросли *Fucus* зигота не обладает предопределенной полярностью, что делает ее удобным экспериментальным материалом, поскольку она является свободноживущей клеткой, у которой можно изменить плоскость первого деления, воздействуя различными факторами.

Яйцеклетки *Fucus* высвобождаются в морскую воду и после оплодотворения оседают на твердый субстрат, где у них происходит образование локального выступа, служащего первым признаком появления ризоидов, с помощью которых молодые растения прикрепляются к камням. Положение ризоида детерминировано ориентацией веретена во время первого митоза, которое в свою очередь определяет плоскость первой разделяющей стенки. Ориентация веретена может зависеть от градиентов различных внешних факторов, таких, как свет, температура, рН и осмотическая активность. Если яйцеклетки подвергать одностороннему освещению, то приблизительно через 14 ч после оплодотворения на теневой стороне начинают формироваться выступы, и митоз происходит таким образом, что ось веретена оказывается параллельной направлению падающего луча, а клеточная стенка формируется перпендикулярно этому направлению; в результате образуется одна большая клетка, дающая начало таллому, и меньшая, из которой формируется ризоид (рис. 1.16). Внешние факторы могут влиять на положение оси полярности за несколько часов до появления ризоида, но затем место его возникновения становится, по-видимому, необратимо фиксированным.

Еще до появления первых видимых признаков будущего ризоида поверхность ядра приобретает высокую степень поляризации, образуя пальцеобразные выступы (представляющие со-

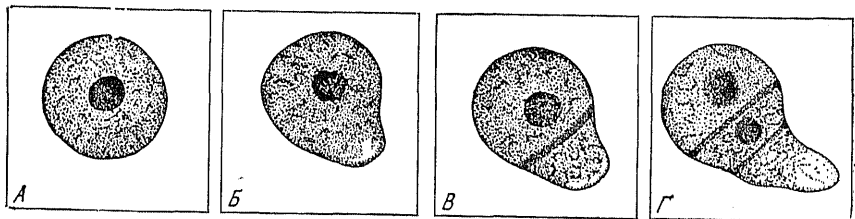


Рис. 1.16. Последовательные стадии раннего развития зародыша у *Fucus*. В. После завершения формирования клеточной стенки образуются ризоидная и талломная клетки. Г. Произошло еще одно деление.

бой выпячивания ядерной мембраны), направленные в сторону места образования ризоида. Митохондрии, рибосомы и фибриллярные пузырьки также концентрируются в этой, ризоидной, половине зиготы, которая поэтому имеет более густую цитоплазму. В это время на стороне будущего ризоида наблюдаются изменения и в клеточной стенке, проявляющиеся в отложении здесь полисахарида фукоидина. В результате этих субмикроскопических различий между двумя половинами клетки два дочерних ядра оказываются лежащими в разных условиях.

Указанные субмикроскопические изменения связаны с изменением электрических свойств яйцеклеток. Было установлено, что сторона будущего ризоида становится электроотрицательной по отношению к другим частям клетки, т. е. в клетке возникает разность потенциалов. Кроме того, у неполяризованной яйцеклетки можно зафиксировать ось полярности путем приложения к ней разности потенциалов. Имеются данные, что электрическая поляризация приводит к градиенту ионов кальция в яйцеклетке за счет сильного притока ионов кальция со стороны будущего ризоида и оттока кальция со стороны будущего таллома. И в самом деле, локальная аппликация высокой концентрации ионов кальция к одной из сторон яйцеклетки водоросли *Pelvetia* приводит к развитию ризоида именно на этой стороне.

У спор хвоща (*Equisetum*) и других низших растений аналогичный эффект на детерминацию плоскости первого клеточного деления оказывает свет. Первая клеточная стенка образуется под прямым углом к падающему свету.

Коль скоро полярность установилась, она становится практически необратимой. Этот факт можно проиллюстрировать в экспериментах с регенерацией. Так, если мы возьмем черенки ивы и поместим их во влажную атмосферу в подвешенном состоянии, то адвентивные корни будут развиваться только на морфологически нижнем, а почки — на верхнем конце

(рис. 1.15, А). То же самое будет наблюдаться, если взять сегменты корней цикория, одуванчика или щавеля и посадить во влажный песок — корни разовьются в основном на морфологически нижнем (дистальном) конце, а почки — на морфологически верхнем (проксимальном) (рис. 1.15, Б). Таким образом, хотя черенки ивы, а также, хотя и в меньшей степени, отрезки корней не имеют каких-либо морфологических различий между верхними и нижними концами, ясно, что эти органы обладают отчетливой физиологической полярностью, которая влияет на зоны регенерации корней и почек. Полярность внутренне присуща тканям, т. е. она не зависит от гравитации, освещения или других внешних факторов. Это подтверждается тем, что черенки ивы, помещенные во влажную атмосферу верхней стороной вниз, все равно образуют корни преимущественно на морфологически нижнем конце (рис. 1.15, А). Тот же эффект наблюдается и с корневыми сегментами цикория, если их посадить верхним концом вниз. Низшие животные, такие, как гидра или планария, проявляют аналогичные свойства полярности при регенерации своих частей.

Физиологическая полярность является «врожденным» свойством тканей. Иногда полагают, что она обусловлена градиентами метаболитов или других веществ в стебле или корне, но на самом деле это не так, поскольку полярность сохраняется из сезона в сезон, а также во время периода покоя, когда процессы метаболизма замедленны и маловероятно, что градиент метаболитов сохраняется. Следовательно, базипетальный транспорт ауксинов (см. с. 164) и наличие градиентов ауксинов следует рассматривать как результат полярности тканей, а не ее причину.

Мы видели, что отрезок стебля проявляет полярность регенерации, т. е. тенденцию формировать почки на верхнем конце, а корни на базальном. Если такой черенок разделить пополам, то каждая половина, даже очень короткая, будет проявлять те же самые свойства. Если бы мы могли бесконечно продолжать деление отрезка, то убедились бы, что каждая отдельная клетка проявляет полярность и действительно есть данные, подтверждающие это заключение. Так, у зеленой нитчатой водоросли *Cladophora* полярность тела проявляется в том, что базальный конец образует ризоид. Если клетки нити кладофоры подвергнуть плазмолизу до полного отставания протопласта от клеточных стенок (что приведет к разрыву цитоплазматических связей между клетками), а затем деплазмоллизировать, то каждая клетка впоследствии регенерирует новую нить, образуя ризоид на базальном конце клетки (рис. 1.17). Этот эксперимент достаточно четко иллюстрирует полярность отдельных клеток кладофоры. Получить аналогичные данные для клеток высших растений очень трудно, но су-

существует много косвенных подтверждений этой гипотезы, например неэквивалентное деление клеток.

Эти различные наблюдения наводят на мысль, что 1) полярность тканей стебля или корня чрезвычайно стабильна и практически необратима; 2) полярность сохраняется даже во время периодов покоя, когда метаболизм протекает на низком уровне; 3) полярность ткани, по-видимому, отражает полярность отдельных клеток. Исходя из этого, было сделано предположение, что полярность клеток должна иметь какую-то постоянную структурную основу. Пример с делением отрезка стебля на несколько частей, каждая из которых проявляет ту же полярность регенерации, что и сам отрезок, можно сравнить с аналогичным делением бруска магнита, в результате чего каждый кусок становится маленьким магнитом. В магните каждый атом металла обладает магнитной полярностью, и в процессе намагничивания атомы «выстраиваются» так, что их «северный» и «южный» полюсы ориентируются вдоль оси бруска. По аналогии мы можем постулировать, что каждая клетка полярного органа, например стебля, содержит поляризованные молекулы, которые ориентированы вдоль оси каждой клетки, образуя «цитоскелет», однако попытки продемонстрировать такую ориентацию молекул в клетке оканчивались пока неудачно. Интересно, что среди линейных ориентированных структур, которые мы знаем, только микротрубочки лежат в стеблях и корнях под *прямым углом* к оси поляризации (с. 23). Было сделано предположение, что полярный транспорт ауксинов может зависеть от поляризации плазматической мембраны на концах стенки клетки (с. 169).

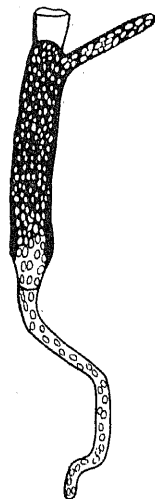


Рис. 1.17. Однородная клетка из нити кладофоры регенерирует таллом из апикального и ризонд из базального конца. (A. T. Czaja, Protoplasma, II, 601, 1930.)

1.10. ПОЛЯРИЗОВАННОЕ ДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК

В процессе развития органа ориентация плоскости клеточных делений играет очень важную роль в определении его окончательной формы и внешнего вида. В самом деле; можно сказать, что без ориентированных клеточных делений тело растения не будет иметь организованной формы, о чем свидетельствует развитие в культуре каллусной ткани, где ориентация плоскости клеточного деления — процесс случайный, и ткань формируется в виде бесформенной, структурно неорга-

низованной массы (с. 235—236). Следовательно, поляризованное деление клетки обуславливает трехмерную форму тела растения. Например, в развивающемся междоузлии большинство клеточных делений ориентировано таким образом, что веретено митоза лежит параллельно оси междоузлия. Вследствие этого междоузлие растет главным образом в длину и только незначительно увеличивается в диаметре. На плодах тыквы, имеющих разнообразную форму, было показано, что у продолговатых плодов деления, приводящие к удлинению плода, в которых митотические веретена ориентированы параллельно продольной оси, происходят гораздо чаще, чем деления, в которых веретена ориентированы в других плоскостях; вместе с тем в круглых плодах не обнаружено преобладания делений с ориентацией митотического веретена в какой-либо определенной плоскости. Однако мы еще не можем сказать, что определяет ориентацию плоскостей клеточных делений относительно определенной оси. Ясно одно — гены принимают участие в этом процессе, поскольку многообразие форм плода, в том числе и у тыквы, наследуется согласно простым менделевским законам. По-видимому, полярность, присущая организму в целом, также оказывает сильное влияние на плоскость клеточного деления путем воздействия на ориентацию митотического веретена. Как регулируется ориентация веретена, пока неизвестно.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Clowes F. A., Juniper B. E.*, 1968. *Plant Cells*, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
Gunning B. E. S., Steer M. W., 1975. *Plant Cell Biology*, Edward Arnold, London.
Hall M. A. (ed.), 1976. *Plant Structure, Function and Adaptation*, MacMillan, London.

Специальная литература

- Bloch R.* (1965). Histological foundations of differentiation and development in plants, *Encyc. Plant Physiol.*, 15(1), 146.
Gunning B. E. S., Steer M. W., 1975. *Ultrastructure and the Biology of Plant Cells*, Edward Arnold, London.
Quatrano R. S., (1978). Development of cell polarity. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 29, 487.
Robards A. W., 1974. *Dynamic Aspects of Plant Ultrastructure*, McGraw Hill, London.
Yeoman M. M. (ed.), 1976. *Cell Division in Higher Plants*, Academic Press, London.

Глава 2

Особенности роста и дифференцировка растения в целом

2.1. УРОВНИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

До сих пор речь шла главным образом о росте, а не о дифференцировке. В настоящей главе мы рассмотрим развитие основных органов растения и пути, по которым идет его дифференцировка.

Итак, если рассматривать многообразие форм дифференцировки растения, то можно обнаружить, что она проходит на различных уровнях. Наивысший уровень дифференцировки — это дифференцировка тела растения в целом, что выражается, например, в делении растения на корень и побег. Побег в свою очередь дифференцируется на такие органы, как стебли, листья, почки и цветки, а в пределах каждого из этих органов происходит дифференцировка на клеточном и тканевом уровнях. Эти три уровня дифференцировки представляют собой ряд последовательных стадий, протекающих во времени. Первая стадия — дифференцировка корня и побега в зародыше; затем в результате активности апикальных меристем следует формирование примордиев органов. Вначале в этих примордиях не наблюдается дифференцировки на клеточном и тканевом уровнях, она происходит на более поздних стадиях развития.

В жизненном цикле семенных растений происходит и ряд других изменений, которые можно рассматривать как различные аспекты дифференцировки. Наиболее важным из таких изменений является переход растения к репродуктивной фазе, включающий глубокие изменения в структуре апекса побега (с. 64). Позднее мы увидим, что у многих видов начало цветения регулируется внешними факторами, однако у многих других оно, по-видимому, в большей степени детерминируется постепенными изменениями, происходящими в процессе развития самого растения, чем внешними факторами. Часто такие постепенные физиологические изменения отражаются на морфологических характеристиках, таких как форма листовой пластинки, которая нередко меняется снизу вверх по стеблю. Этих сторон развития мы коснемся позднее, но важно уяснить, что они представляют собой те или иные аспекты дифференцировки в пределах побега в целом.

2.2. ДИФФЕРЕНЦИРОВКА КОРНЯ И ПОБЕГА В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ

Первый важный этап дифференцировки, происходящий на очень ранней стадии эмбриогенеза, связан с появлением кончиков побега и корня.

В качестве примера эмбриогенеза у покрытосеменных рассмотрим развитие зародыша обыкновенной пастушьей сумки (*Capsella bursa-pastoris*). Цитоплазма неоплодотворенной яйцеклетки *Capsella* сильно поляризована. Та ее половина, которая обращена к микропиле, содержит ядро и основную массу цитоплазмы, а другая — «халазальная» — большую вакуоль (рис. 2.1). В результате первого неэквивалентного деления образуется одна небольшая, содержащая густую цитоплазму апикальная клетка, из которой в основном и развивается будущий зародыш, и другая большая вакуолизированная базальная клетка, дающая начало суспензору, или подвеску (рис. 2.2). Апикальная клетка делится дважды, причем плоскость второго

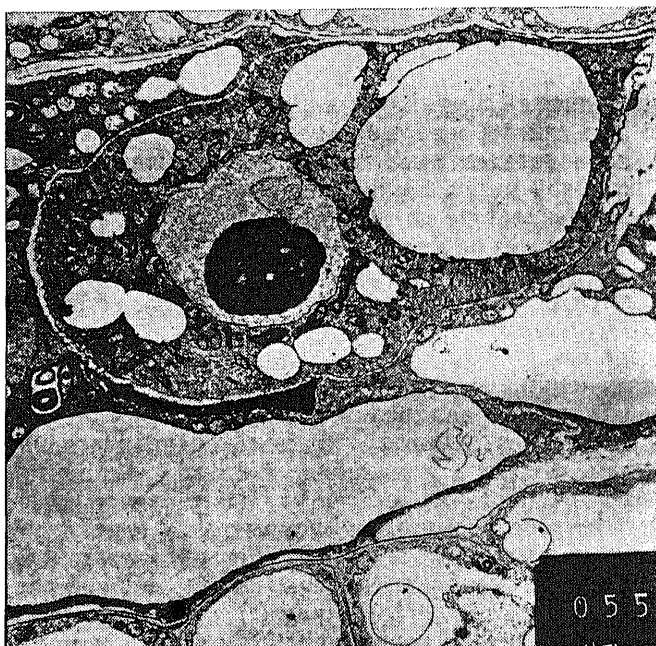


Рис. 2.1. Электронная микрофотография зиготы пастушьей сумки (*Capsella bursa-pastoris*), иллюстрирующая поляризацию клетки. Поляризация проявляется в том, что ядро лежит в густой цитоплазме у микропилярного конца (слева), а большая вакуоль — у халазального конца (справа). Sister Richardis Schultz, Jensen, Amer. J. Bot., 55, 807—819, 1968.)

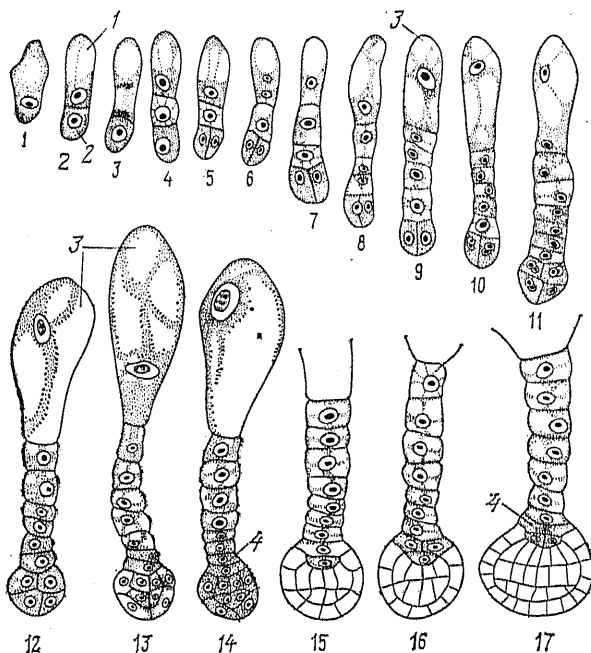


Рис. 2.2. Ранние стадии развития зародыша *Capsella bursa-pastoris*. (А. Fahn, Plant Anatomy, Pergamon Press, Oxford, 1967, с изменением по Souèges, 1914.) Обратите внимание на первое неэквивалентное деление, в результате которого образуется большая базальная клетка (1) и меньшая терминальная (2). 3 — вакуоль; 4 — гипофиза. Базальная клетка дает начало суспензору.

деления перпендикулярна плоскости первого. В результате образуются четыре клетки. Каждая из этих четырех клеток делится поперечно, формируя восемь клеток, составляющих так называемый октант. Из каждой клетки октанта образуются одна протодермальная клетка, которая дает начало будущей эпидерме, и одна клетка, продолжающая деление и формирующая семядоли и гипокотиль.

Путем нескольких последовательных поперечных делений базальная клетка образует ряд клеток, из которых формируется суспензор. Последняя клетка суспензора увеличивается в размерах и становится мешкообразной. Клетки суспензора, расположенные ближе к зародышу, подвергаются нескольким делениям и дают начало группе клеток, из которых наружные формируют будущий корневой чехлик и эпидерму корня, а внутренние — оставшуюся часть зародышевого корня. Полного развития зародыш достигает в результате повторяющихся делений в этих различных зонах.

Характер развития у разных групп покрытосеменных растений может значительно отличаться от описанного для *Carpella*, но здесь мы не будем касаться этих деталей. Однако, каким бы ни был ход дальнейшего развития, начальные стадии имеют некоторые общие черты, а именно: первое деление зиготы дает начало двум неэквивалентным клеткам, из которых базальная клетка обычно расположена ближе к микропиле семязачатка и дает начало корневому концу зародыша, тогда как из терминальной клетки развивается побеговый конец. Следовательно, даже на самых ранних стадиях развития зародыш проявляет полярность, выражающуюся в различиях между его противоположными концами, один из которых будет корнем, а другой побегом. В действительности и в самой яйцеклетке наблюдаются различия между ее двумя концами, выражающиеся в разной густоте цитоплазмы, что наводит на мысль о предопределенности первого неэквивалентного деления зиготы поляризацией неоплодотворенного яйца.

После дифференцировки зародыша на корневую и побеговую зоны происходит заложение апикальных меристем и дифференцируются некоторые органы, часто еще во время нахождения семени на материнском растении. В это время можно обнаружить не только семядоли, но и зачаточный эпикотиль, а у злаков даже несколько листовых примордиев.

2.3. АПИКАЛЬНЫЕ МЕРИСТЕМЫ ПОБЕГА

Хотя настоящая книга в основном посвящена цветковым растениям, полезно вкратце остановиться на характере роста низших растений. У простых нитчатых водорослей, таких как *Spirogyra*, нет определенных локализованных зон роста, и каждая клетка обладает потенциальной способностью к делению и росту. Однако многие водоросли обладают выраженной локализацией роста. Так, водоросль *Chara* имеет одну хорошо заметную апикальную клетку, которая подвергается повторным делениям, образуя большую дистальную клетку, продолжающую функционировать в качестве апикальной, и меньшую проксимальную дочернюю клетку, которая продолжает делиться, а образующиеся в результате этих делений клетки формируют зрелую ткань таллома.

У мохообразных и многих папоротникообразных рост побега также происходит в результате деления одной хорошо выраженной апикальной клетки, которая имеет форму перевернутого тетраэдра и делится так, что три ее «внутренние» поверхности последовательно отделяют дочерние клетки. Последние подвергаются дальнейшему делению, формируя ткани побега.

Еще в начале XIX в. исследователи были столь удивлены единством структуры сосудистых растений, что надеялись обнаружить единичные апикальные клетки также у голосеменных и покрытосеменных растений и даже описали такие клетки. Однако позднее стало ясно, что в побегах высших растений не существует какой-то *одной* четко различимой апикальной клетки, но в апикальной части побега цветковых различаются две зоны: наружная *туника*, или мантия, которая окружает и покрывает внутренний *корпус* (рис. 2.3). Эти зоны хорошо различаются по преобладающим плоскостям клеточных делений. В тунике деления происходят преимущественно *антиклинально*, т. е. ось митотического веретена параллельна поверхности, а образующаяся между двумя дочерними клетками поперечная стенка располагается перпендикулярно поверхности. В корпусе же деления происходят во всех плоскостях как *антиклинально*, так и *периклинально* (т. е. веретено перпендикулярно, а новая стенка параллельна поверхности). Толщина туники до некоторой степени варьирует, и в зависимости от вида она может состоять из одного, двух и более слоев клеток. Кроме того, даже в пределах вида число слоев туники может меняться в зависимости от возраста растения, статуса питания и других условий.

Следует заметить, что теория туники—корпуса в значительной степени носит описательный характер и базируется на простом наблюдении, поэтому она не позволяет установить



Рис. 2.3. Медиапный срез через апикальную меристему побега *Alternanthera philoxeroides*, на котором видна двуслойная туника, покрывающая центральный корпус. (E. G. Gutter, *Phytomorph.*, 17, 437, 1967.)

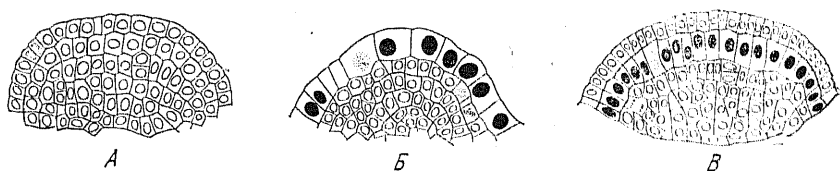


Рис. 2.4. Продольный срез через апекс побера *Datura*. (По S. Satina, A. F. Blackeslee, A. G. Avery, Amer. J. Bot., 27, 895, 1940.)

А. Нормальный апекс с диплоидными клетками. Б. Апекс после обработки колхицином; во внешнем слое туники видны полиплоидные ядра. В. Апекс после обработки колхицином. Полиплоидные ядра располагаются во внутреннем слое туники.

судьбу клеток туники и корпуса. Эпидерма, конечно, возникает из наружного слоя туники, однако вклад, который вносят эти два слоя в образование листьев и почек, варьирует в зависимости от принадлежности растения к тому или иному виду (с. 46). Хотя не следует рассматривать тунику и корпус как строго и постоянно разграниченные, у некоторых видов наружные слои туники отчетливо выражены на фоне более глубоких слоев в течение длительного периода. Это можно продемонстрировать с помощью метода, который заключается в индукции полиплоидии в клетках апекса побега дурмана (*Datura*) и кукурузы путем обработки их колхицином. Образующиеся в результате тетраплоидные клетки легко отличить по их крупным ядрам. Если тетраплоидные клетки формируются, например, в наружном слое туники, то все возникающие дочерние клетки будут иметь большое ядро и располагаться строго в одном слое (рис. 2.4). Следовательно, периклинальные деления происходят очень редко, и каждый слой туники с удивительным постоянством сохраняет свою идентичность. Каждый такой слой туники возникает из ряда инициальных клеток апекса побега, а корпус, по-видимому, образуется из собственных инициальных клеток, хотя на этот счет существует несколько точек зрения.

Различие между туникой и корпусом в апексах побегов голосеменных менее выражено, и несмотря на то, что в наружных слоях, например у *Pinus*, преобладают антиклинальные деления, периклинальные деления также происходят довольно часто.

Кроме туники, корпуса и клеток, из которых они происходят, в апексах некоторых видов можно различить и ряд других зон. Простая форма зональности представлена на рис. 2.5. В самой верхней части апекса имеется группа инициальных клеток, которые делятся главным образом антиклинально, образуя тунику, но в нижних слоях эти клетки могут делиться

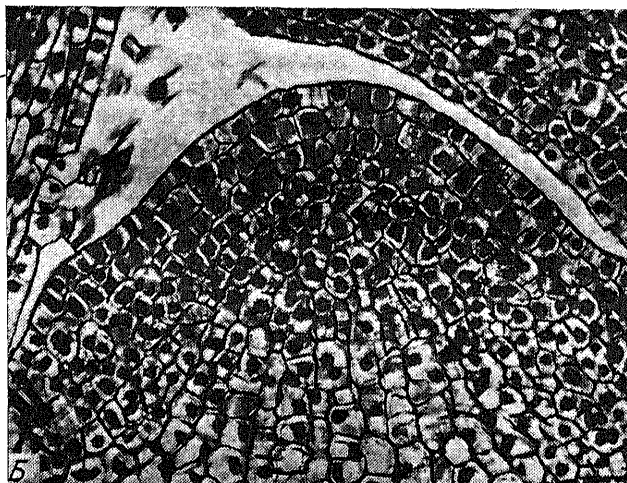
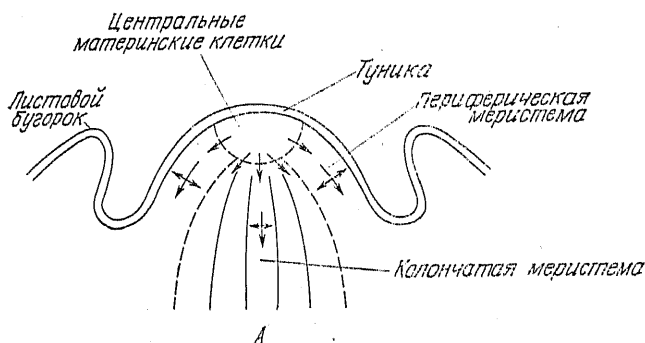


Рис. 2.5. А. Обобщенная схема распределения зон в апексе побега цветкового растения. Б. Медианный срез через вегетативный апекс *Chrysanthemum morifolium*, на котором можно различить зоны, показанные на схеме А. (R. A. Popham, Amer. J. Bot., 37, 476, 1950.)

также и периклинально. Ниже инициальных клеток имеется группа больших по размерам клеток, известных как *центральные материнские клетки*, которые, по-видимому, имеют низкую скорость деления. Деление на границе центральной материнской зоны дает начало: 1) зоне активно делящихся клеток, которые формируют боковые стороны апекса и иногда называются *фланговой* или *периферической меристемой*; 2) зоне клеток, которые делятся главным образом вдоль оси побега и дают начало продольным рядам клеток первичной коры и сердцевины и, следовательно, иногда называются *колончатой меристемой*. Границы между этими зонами, которым разными ав-

торами даны различные названия, в какой-то степени условны и переходят одна в другую. Кроме того, у разных видов форма апекса, а также число зон, которое можно в нем выделить, значительно варьируют, хотя в конечном итоге апексы всех этих видов дают начало одним и тем же структурам: стеблям, листьям и почкам. Таким образом, различные зоны, различимые в апексе побега, по-видимому, не имеют большого морфогенетического значения.

2.4. ЗАЛОЖЕНИЕ ЛИСТЬЕВ И ПОЧЕК

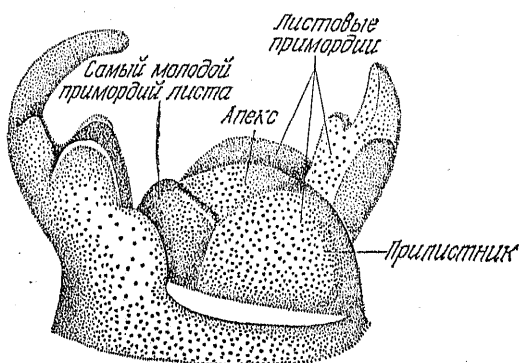
Лист возникает из группы периклинально делящихся клеток во фланговой зоне апекса побега (рис. 2.10). В результате локального деления образуется небольшой бугорок (рис. 2.9 и 2.10), который дает начало будущему листовому примордию. В зависимости от вида число слоев клеток, вовлекаемых в такие инициальные деления, может значительно варьировать. У многих злаков периклинальные деления происходят в самом верхнем слое туники и лежащем под ним слое. У других однодольных, а также у двудольных периклинальные деления в самом верхнем слое не наблюдаются, но отмечаются в нижележащих слоях. Таким образом, степень вовлечения туники и корпуса в процесс заложения примордия может значительно варьировать. У многих видов инициальные деления происходят как в тунике, так и в корпусе, тогда как у других — либо в том, либо в другом слое. Различия существуют даже в пределах одного вида.

В последовательности изменений апекса побега, наблюдающихся при развитии, латеральные почки обычно появляются несколько позднее, чем листовые примордии. Почки возникают в наружных слоях стеблевых тканей в результате делений, которые в самых наружных слоях могут быть преимущественно антиклинальными или же антиклинальными и периклинальными в более глубоких слоях. Как и при возникновении листьев, для разных видов характерны значительные вариации в отношении степени участия туники и корпуса в клеточных делениях, дающих начало латеральным почкам. В результате таких делений почка возникает в виде бугорка, и вскоре в ней развивается апикальная структура, аналогичная апексу главного побега данного вида.

2.5. ПОЛОЖЕНИЕ ЛИСТОВЫХ ПРИМОРДИЕВ

Положение листовых примордиев в апексе побега довольно строго регулируется, хотя у разных видов существуют значительные различия в отношении закономерностей их расположения. При рассмотрении этой проблемы необходимо помнить,

Рис. 2.6. Вегетативный апекс *Vitis*. (A. Fahn, Plant Anatomy, Pergamon Press, Oxford, 1967.)



что апекс характеризуется непрерывным ростом и по мере его роста более старые листовые примордии остаются позади фланговой зоны апекса и постоянно увеличиваются в размерах (рис. 2.6). По мере роста апекса выше уже существующих непрерывно закладываются новые листовые примордии.

Положение листовых примордиев на апексе определяет будущее расположение листьев на зрелом побеге и называется *филлотаксисом*. Наиболее часто встречающийся тип листорасположения — *спиральный филлотаксис*, при котором линия, проведенная последовательно от самого молодого к самому старому примордию, имеет вид спирали, называемой *генетической* или *эволюционной спиралью* (рис. 2.7). Математический анализ спирального филлотаксиса привлекает внимание ботаников уже более ста лет, но здесь мы коснемся этой проблемы лишь настолько, насколько она имеет отношение к положению примордиев на апексе побега.

Наиболее удобным объектом для изучения филлотаксиса является папоротник, поскольку он имеет относительно плоский апекс и разделенные в пространстве примордии (рис. 2.8). При этом удобно пользоваться системой обозначений, в которой самый молодой примордий обозначается как P_1 , а последующие, более старые примор-

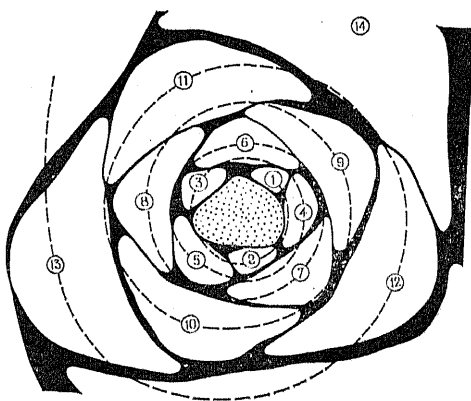


Рис. 2.7. Схема спирального филлотаксиса на поперечном срезе апикальной зоны побега *Saxifraga* (генетическая спираль показана штриховой линией). (F. Clowes, Apical Meristems, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1961.)

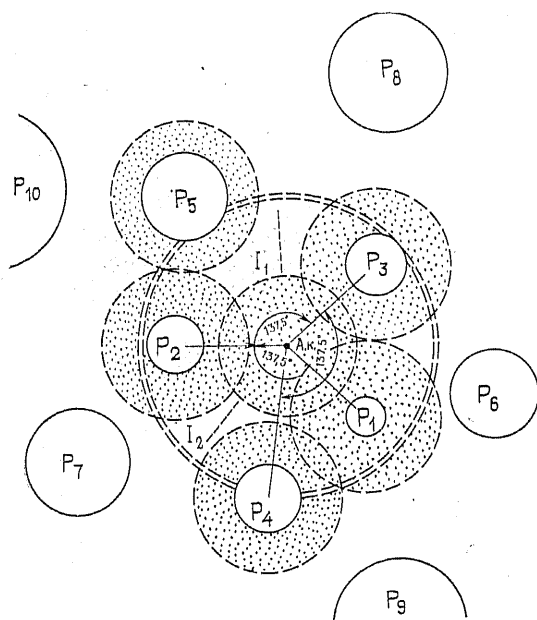


Рис. 2.8. Схематическое представление точки роста и прилегающих областей применительно к апексу *Dryopteris* (вид сверху). А.к. — апикальная клетка; P_1, P_2, P_3, P_4 и т. д. — листовые примордии в порядке увеличения возраста. I_1, I_2 — следующие (еще невидимые) примордии в порядке будущего возникновения. Двойным штриховым кругом обозначена приблизительная граница апикального конуса. Вне двойного круга находится субапикальная зона. Некоторые центры ростовой активности окружены гипотетическими ингибиторными полями (выделены точками). (По С. W. Wardlaw, Growth, 13, Suppl. 98, 1949.)

дии — как P_2, P_3 и т. д. Следующий примордий, который должен возникнуть, обозначается как I_1 (т. е. инициаль 1), а последующие *более молодые* — как I_2, I_3 и т. д. Если от центра апекса провести радиусы к двум, следующим один за другим листовым примордиям, то можно обнаружить, что угол расхождения между двумя линиями варьирует у разных видов растений, однако в апексах с большим числом примордиев приближается к «постоянному» значению $137,5^\circ$. Кроме того, установлено, что у многих видов радиус между центром апекса и последующим листовым примордием увеличивается в геометрической прогрессии, что указывает на расширение апекса с увеличением расстояния от центра. Таким образом, спиральный филлотаксис апекса побега можно представить в виде радиально нанесенных вокруг центра точек с углами расхождения между последующими точками, равными $137,5^\circ$, и удалением от

центра следующей точки на расстояние, возрастающее в геометрической прогрессии. Если теперь последовательно соединить все точки, то получится генетическая спираль.

Чем обусловлено возникновение последующего примордия в точке, имеющей угол расхождения с предыдущим примордием, равный приблизительно $137,5^\circ$? По этому вопросу было множество споров, и в настоящее время существуют две основные теории: «теория подавления» и «теория доступного пространства». Обе теории постулируют, что место положения будущего примордия детерминировано расположением уже существующих примордиев. Согласно теории доступного пространства (предложенной Гофмейстером в 1865 г.), новый примордий может возникнуть только при наличии определенного минимального пространства между уже существующими примордиями и центром апекса. По мере роста апекса пространства между существующими примордиями увеличиваются, и следующий примордий (I_1) возникнет между P_2 и P_3 , поскольку именно эта зона первой должна достигнуть необходимых минимальных размеров. Следующий примордий (I_2) возникнет между P_2 и P_4 и т. д.

Теория «подавления» была предложена Шоуте (1913), постулировавшим, что вначале определяется центр листового примордия, который выделяет особое вещество, подавляющее формирование других примордиев в непосредственной близости от него; таким образом, новые примордии могут образоваться в промежутках между более старыми, где они, предположительно, находятся вне зоны действия ингибиторов соседних примордиев (рис. 2.8). Согласно этой теории, возникновение новых центров подавляется также и главным апексом, что препятствует образованию новых примордиев на минимальном расстоянии от верхушки апекса. Данные, свидетельствующие о взаимном подавлении центров роста, действительно существуют.

Обе эти теории не обязательно исключают друг друга, поскольку «доступное пространство» определяется не просто площадью поверхности между соседними примордиями, но и отсутствием их ингибирующего влияния. Согласно обеим теориям, филлотаксис в первую очередь определяется геометрией апекса побега. С чисто геометрической точки зрения I_1 может возникнуть с углом расхождения от P_1 , равным $137,5^\circ$, только в том случае, если это произойдет в точке, делящей угол между P_2 и P_3 обратно пропорционально их возрастам; следовательно, новый примордий будет находиться на неодинаковых расстояниях от соседних, т. е. сместится к более старому (большему) из них (рис. 2.8). Значение этого факта не ясно, но он согласуется с гипотезами о том, что соседние примордии играют важную роль в определении нового примордия.

Попытки проверить теорию допустимого пространства и подавления были сделаны с помощью хирургических экспериментов на апексах побегов. Например, в экспериментах с *Lupinus albus* Р. и М. Сноу делали радиальные сечения в зоне, где, по их расчетам, должен возникнуть новый (I_2) примордий, уменьшая тем самым доступное пространство. Эти авторы обнаружили, что примордий в предполагаемом месте не образуется, так как, по-видимому, площадь, требуемая для его возникновения, уменьшилась и стала ниже минимально необходимой. В другом эксперименте Уордлоу изолировал двумя радиальными сечениями в апексе побега папоротника зону I_1 и обнаружил, что после этого развитие примордия проходило *быстрее*, чем обычно (рис. 2.11, Б). По мнению Уордлоу, эффект достигается за счет изоляции будущего примордия от ингибирующего действия соседних. Несмотря на то что данные, полученные в результате хирургических экспериментов, представляют определенный интерес, они не дают решающего доказательства в пользу той или иной теории.

Недавно Торнли предложил математическую модель филлотаксиса, основные положения которой близки постулированным в теории подавления. В основе модели лежит предположение о том, что каждый листовый примордий является местом образования «морфогена» M . Интенсивность действия морфогена зависит от возраста, размера и расстояния его источника от апекса. Предполагается, что морфоген должен диффузно распространяться от зачатков листьев и интенсивность его действия понижается со скоростью, пропорциональной его концентрации. Согласно этой модели, заложение нового листового примордия может происходить только в том месте, где концентрация M падает до определенного критического значения. Это положение идентично положению теории подавления. Математическая модель, основанная на этих исходных постулатах, предполагает, что при определенных условиях угол между соседними примордиями будет приближаться к наблюдаемому значению $137,5^\circ$. Таким образом, данный подход также показывает, что расположение листовых примордиев на апексе побега может быть предсказано на основе довольно простых исходных допущений.

2.6. РАЗВИТИЕ ЛИСТА

Развитие листа можно разделить на следующие стадии: 1) образование листового выступа; 2) образование оси листа; 3) образование пластинки. Последующее изложение основано на данных по развитию листа табака.

Как уже отмечалось (с. 46), в результате периклиальных делений в поверхностных слоях фланговой меристемы возника-

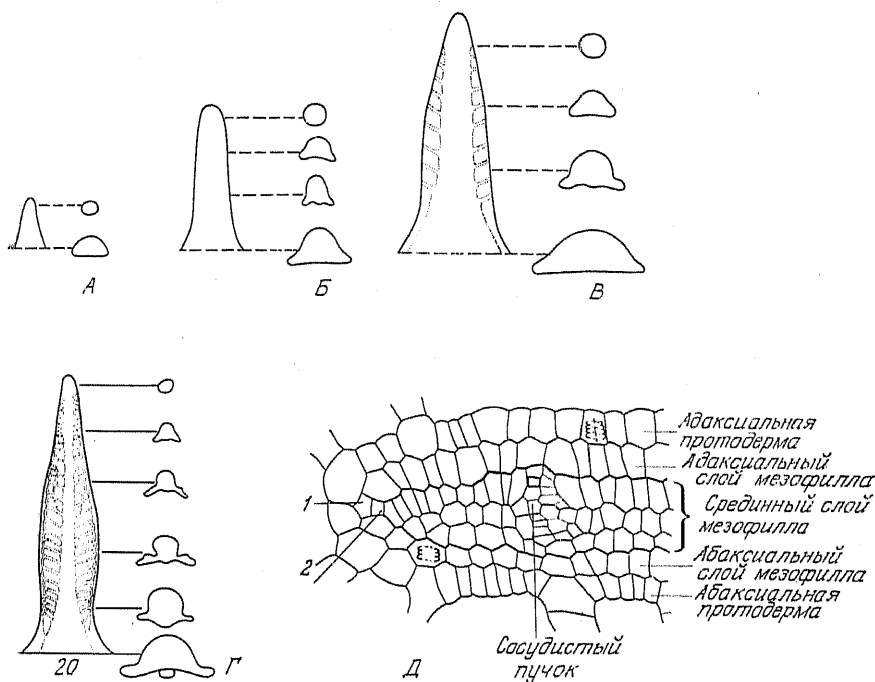


Рис. 2.9. Схемы продольных и поперечных срезов листовых примордиев *Nicotiana tabacum* на различных стадиях онтогенеза. (G. S. Avery, Amer. J. Bot., 20, 565, 1933.)

А. Молодой более или менее конусообразный примордий. Б. Начало латерального разрастания примордия вдоль двух сторон оси листа. В. Примордий, у которого начинают развиваться основные боковые жилки. Г. Примордий, достигший длины 5 мм; можно видеть начало развития будущей проводящей системы. Д. Поперечный срез через маргинальную зону листа табака, на котором видны субмаргинальные инициалы (1, 2), а также происхождение мезофилла и проводящего пучка.

ет небольшой выступ (рис. 2.10). Определенные клетки, расположенные ближе к центру этого листового выступа, начинают активно делиться и образуют небольшую пальцеобразную структуру (рис. 2.9), которая продолжает расти за счет активности апикальных клеток до тех пор, пока не достигнет в длину приблизительно 1 мм. На этой стадии листовой примордий помимо будущей оси (средней жилки и черешка) листа содержит очень незначительное количество других тканей. Вскоре, однако, определенные клетки его периферической зоны начинают расти так, что на поперечных срезах он выглядит уплотненным. Эти делящиеся клетки по бокам средней жилки представляют собой *маргинальные меристемы*, дающие начало листовой пластинке. Верхушечный рост средней жилки прекраща-

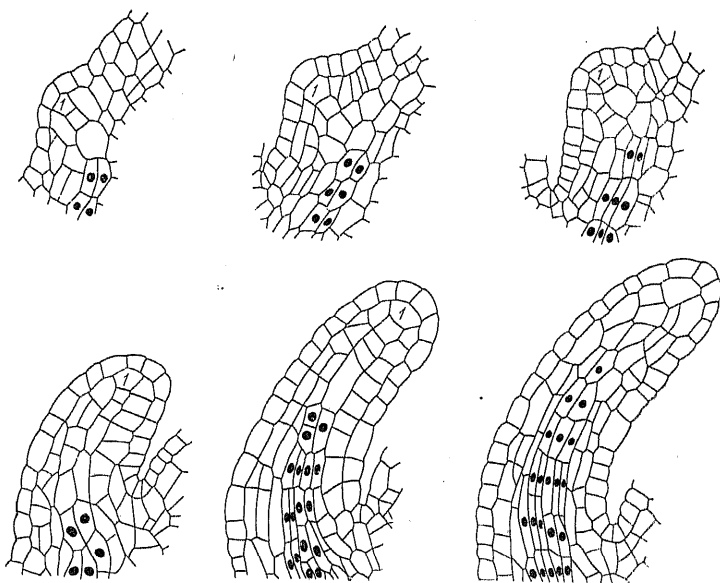


Рис. 2.10. Ранние стадии развития листового примордия льна (*Linum*). (G. Girolami, Amer. J. Bot., 41, 264, 1954.)

Показано развитие прокамбиального тяжа (ядра в клетках прокамбия выделены). 1 — субмаргинальная инициальная клетка.

ется довольно рано, когда длина листа составляет всего 2—3 мм, и дальнейший рост в основном дисперсный.

Маргинальные меристемы образованы поверхностными *маргинальными инициальными клетками* (инициалами) и подстилающими *субмаргинальными инициалами* (рис. 2.9 и 2.10). У двудольных маргинальные инициали обычно делятся только антиклинально, образуя поверхностные слои листа, тогда как субмаргинальные инициальные клетки формируют внутренние ткани будущего листа. В результате активности маргинальных и субмаргинальных инициальных клеток в молодой листовой пластинке устанавливается некоторое определенное число слоев и, независимо от внешних условий, у большинства листьев это число слоев остается довольно постоянным в течение последующего развития. Это относительное постоянство в числе слоев является результатом того, что клетки продолжают делиться главным образом антиклинально, т. е. под прямым углом к поверхности листа, а это ведет к постоянному увеличению его площади, а не толщины.

В различных слоях листа клеточное деление прекращается на разных стадиях развития. Клетки эпидермы обычно прекращают деление первыми, когда лист табака имеет длину только

6—7 см, что составляет от $\frac{1}{5}$ до $\frac{1}{6}$ его окончательного размера. Однако эти эпидермальные клетки продолжают увеличиваться в размерах до тех пор, пока не прекратится рост всего листа. Вместе с тем палисадные клетки продолжают делиться, образуя слой компактно упакованных клеток, сохраняющих темп роста, присущий соседним эпидермальным клеткам. Деление и растяжение в этих клетках прекращаются незадолго до того, как эти процессы прекращаются в эпидермальных клетках, следовательно, чтобы сохранить темп роста, одинаковый с темпом роста последних, на заключительных стадиях палисадные клетки должны отодвигаться друг от друга, в результате чего между ними образуются межклеточные пространства. В клетках губчатого мезофилла деление и растяжение прекращаются еще раньше, чем в клетках палисадного, поэтому на последних стадиях развития листа они раздвигаются в сторону сильнее, образуя большие по размерам межклетники, чем в слоях палисадного мезофилла, и располагаясь менее регулярно. Изучение происхождения различных слоев мезофилла листа служит хорошим примером того, как анализ морфологии развития помогает лучше понять путь, по которому идет становление зрелой структуры органа.

Первый прокамбий формируется ближе к основанию развивающегося листового примордия на очень ранней стадии (рис. 2.10). Этот первый прокамбий образует среднюю жилку, которая растет как по направлению к верхушке (акропетально), так и к основанию (базипетально), соединяясь с прокамбием стебля (рис. 2.14). Из проводящих элементов первой появляется протофлоэма, а затем несколько позднее — протоксилема. Вскоре после этого латеральные меристемы начинают формировать листовую пластинку, а первые признаки появления боковых жилок наблюдаются, еще когда примордий имеет длину 1,55 мм. Через некоторое время ближе к верхушке можно обнаружить соединительные жилки (рис. 2.9).

Полное нормальное развитие листа зависит от воздействия света, что является одним из важнейших аспектов «фотоморфогенеза» (с. 317). Гормоны, особенно ауксин и цитокинины, также, по-видимому, играют важную роль в регуляции роста листа (с. 192).

2.7. ДЕТЕРМИНАЦИЯ ЛИСТА

Как мы уже отмечали, дифференцировка листьев, почек и стеблей начинается с заложения на апексе побега примордиев листа и почек.

На ранних стадиях развитие листьев и почек имеет много общего, однако если лист вскоре приобретает дорсовентральную симметрию (сплюснут с верхней и нижней сторон), то поч-

ка остается радиально-симметричной. Кроме того, если апикальные меристематические клетки листового примордия рано прекращают активность и развитие листа становится детерминированным, то в зачатке почки развивается типичная апикальная меристема, присущая побегу и характеризующаяся недетерминированным ростом.

Хотя мы знаем, что положение и последовательность возникновения предопределяют развитие данного примордия в почку или в лист, на очень ранней стадии эта детерминация не является необратимой. Так, очень ранние примордии, которые по своему положению должны бы дать начало листьям, в результате определенных хирургических вмешательств могут изменить направление своего развития и превратиться в почки. Методика такого воздействия была разработана Р. и М. Сноу и с тех пор широко использовалась другими исследователями, особенно группой Уордлоу, работавшей с апексами папоротника. Взаимообратимость развития у примордиев листа и почки была продемонстрирована на *Dryopteris dilatata*. Когда исследователи делали глубокие тангенциальные разрезы между апикальной клеткой побега и местом предполагаемого листового примордия, вместо дорсовентрально-симметричного листа развивалась радиально-симметричная почка (рис. 2.11, А). Такое превращение листа в почку может происходить только у очень молодых примордиев. Если же примордий чуть старше, он остается листовым, несмотря на хирургическое воздействие. Следовательно, возникающий на апексе побега примордий вначале не коммитирован и детерминируется как листовый на более поздней стадии развития.

Другой подход к решению проблемы детерминации листа был использован Стивесом, применившим метод стерильной

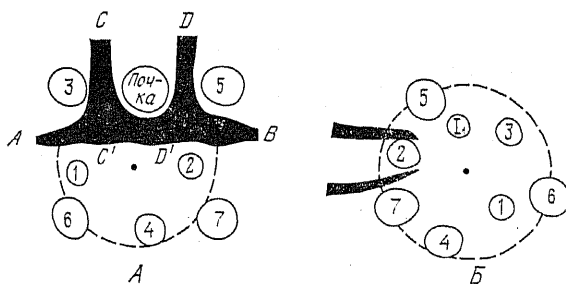


Рис. 2.11. А. Апекс побега *Dryopteris*, у которого место возникновения I_1 было изолировано от апикальной клетки тангенциальным разрезом AB и от листового примордия 3 и 5 радиальными разрезами CC' и DD' . В результате вместо обычного листа сформировалась почка. Б. Апекс побега, в котором листовый примордий P_2 был изолирован от P_5 и P_7 радиальными разрезами; P_2 рос быстрее и вскоре превзошел по размерам более старые примордии. (Из С. W. Wardlaw, Proc. Linn. Soc., 162, 13, 1950—1951.)

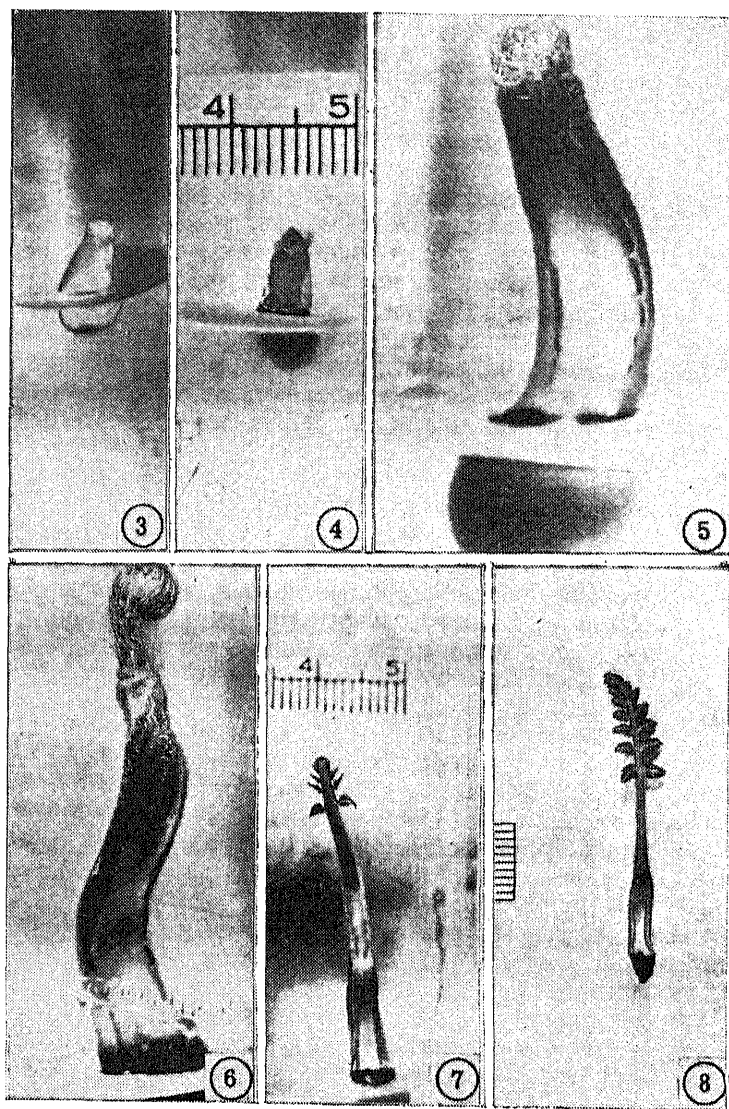


Рис. 2.12. Стерильная культура изолированных листовых примордиев папоротника *Osmunda cinnamomea* на простой среде. 3—8 — последовательные стадии развития листа, начиная с самой ранней (3). (J. D. Caponetti, T. A. Steeves, Can. J. Bot., 41, 545, 1963.)

культуры. Стивес выделял из апекса папоротника *Osmunda cinnamomea* листовые примордии и помещал их на стерильную питательную среду; выделенные примордии проявляли способность к дальнейшему росту и развитию (рис. 2.12). Если в таком эксперименте использовались самые молодые примордии P_1 — P_5 , то они развивались не в листья, а в побеги, которые в конечном счете укоренялись, образуя целые растения. По мере увеличения возраста примордия усиливалась и тенденция его развития как листа, а P_{10} всегда развивался как дорсоventральный лист. На основании полученных результатов Стивес пришел к заключению, что листовые примордии *Osmunda* не являются необратимо детерминированными с момента своего возникновения и остаются такими в течение относительно длительного периода развития. Детерминация примордия происходит постепенно.

Если же детерминация уже произошла, то будущее развитие всего комплекса листовых тканей обеспечивается саморегуляцией; об этом свидетельствует тот факт, что изолированные листовые примордии, помещенные в культуральную среду, проходили все стадии нормального развития, хотя образовавшиеся в результате листья имели меньшие размеры.

2.8. ФОРМА ЛИСТА

Нет необходимости говорить о чрезвычайно широком разнообразии формы листьев у семенных растений. Форма зрелого листа определяется тремя факторами: 1) формой примордия; 2) числом, распределением и ориентацией клеточных делений; 3) количеством и распределением клеточных растяжений.

У разных видов форма раннего листового примордия может значительно варьировать. Как мы видели, у табака молодой примордий представляет собой простую пальцеобразную структуру, однако у кленов (*Acer*) вскоре после развития средней жилки у ее основания появляются два боковых ответвления, и эти три пальцеобразных выроста дают начало главным жилкам листа. В сложном листе, например у ясеня, в основании примордия формируются несколько латеральных долей, из которых впоследствии образуются листочки зрелого листа. Последующее развитие каждого листочка протекает так же, как развитие простого листа.

Относительные скорости роста листовой пластинки и главных жилок оказывают существенное влияние на конечную форму листа. Если скорости роста пластинки и главной жилки одинаковы, то образуется простой лист. Вместе с тем если более энергичный рост наблюдается вблизи жилок, то формирующийся лист будет дольчатым, причем его окончательная

форма зависит также и от характера развития жилки. Например, у клена начальный рост пластинки, локализованный вокруг главных жилок, обычно сопровождается ростом лопастей, образующих цельную листовую пластинку и соединяющихся жилками; в результате образуется *пальчатолопастный лист*. Однако у некоторых разновидностей рост пластинки в большей степени ограничивается зонами, прилегающими к главным жилкам, поэтому возникающий лист будет более рассеченным.

Форма листа может в значительной степени варьировать в зависимости от внешних условий. Так, у некоторых водных растений, например у различных видов *Sagittaria* и *Ranunculus*, погруженные в воду листья сильно отличаются от листьев, находящихся на поверхности. Известно, что у некоторых видов растений имеется большое число генов, обуславливающих значительные вариации в форме листовой пластинки. Характерные изменения формы листьев можно наблюдать во время их последовательного формирования на стебле, начиная со стадии семянца.

2.9. ДИФФЕРЕНЦИРОВКА СТЕБЛЯ

Как мы уже отмечали, клетки апикальной меристемы обычно бывают небольшими по размерам, имеют густую цитоплазму, содержат крупное ядро и не содержат вакуолей. Если проследить от апекса ниже, в области, где уже началась вакуолизация и дифференцировка клеток с образованием сердцевинной и первичной коры, то между этими двумя зонами можно заметить зону, которая характеризуется мелкими, интенсивно

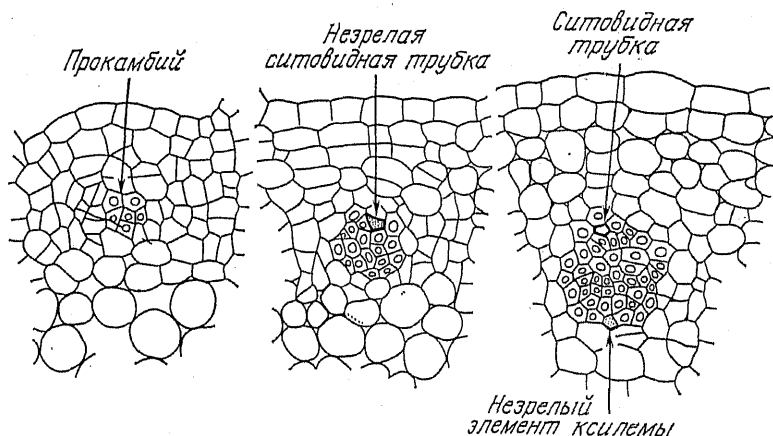


Рис. 2.13. Последовательные стадии развития прокамбия (клетки с ядрами) на поперечных срезах стебля льна (*Linum perenne*); $\times 430$. (К. Esau, Amer. J. Bot., 29, 738, 1942.)

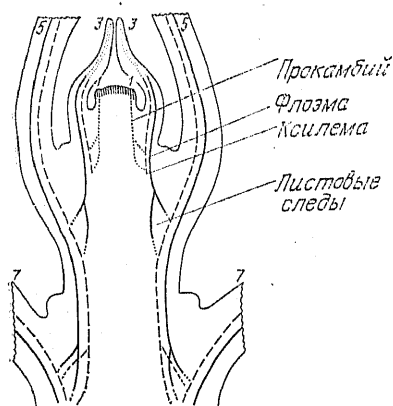


Рис. 2.14. Схема продольного среза побега с супротивным расположением листьев, иллюстрирующая начало дифференцировки проводящей системы. (K. Esau, Plant Anatomy, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1953.)

окрашивающимися клетками, хорошо различимыми на поперечном срезе (рис. 2.13).

Эта последняя зона дает начало будущему прокамбию. У разных видов уровень, на котором обнаруживается прокамбий, значительно варьирует, но обычно он различается в зоне заложения листа. На самом высшем уровне эти интенсивно окрашенные мелкие клетки могут располагаться в форме кольца, однако не все входящие в его состав клетки в дальнейшем формируют проводящие ткани, и ниже по стеблю можно заметить, что кольцо прерывается отдельными тяжами за счет вакуолизации некоторых входящих в состав кольца клеток. Эти тяжи образуют первый четко выраженный прокамбий. На поперечных срезах клетки тяжей выглядят относительно небольшими, а на продольных срезах они могут иметь веретенообразную форму.

Как уже отмечалось (с. 53), развитие прокамбия тесно связано с развитием листа. Подробное изучение апекса побега *Populus* показало, что прокамбиальные тяжи могут быть обнаружены ниже места возникновения будущего листового примордия, причем еще до начала клеточного деления, приводящего к его образованию. По мере развития листового примордия прокамбий «подтягивается» к нему; протофлоэма дифференцируется акропетально от более старой, расположенной ниже протофлоэмы, тогда как протоксилема дифференцируется как акропетально, так и базипетально от основания листового примордия. В результате базипетального развития листовые следы соединяются с другими проводящими пучками стебля (рис. 2.14).

Как уже отмечалось (с. 53), развитие прокамбия тесно связано с развитием листа. Подробное изучение апекса побега *Populus* показало, что прокамбиальные тяжи могут быть обнаружены ниже места возникновения будущего листового примордия, причем еще до начала клеточного деления, приводящего к его образованию. По мере развития листового примордия прокамбий «подтягивается» к нему; протофлоэма дифференцируется акропетально от более старой, расположенной ниже протофлоэмы, тогда как протоксилема дифференцируется как акропетально, так и базипетально от основания листового примордия. В результате базипетального развития листовые следы соединяются с другими проводящими пучками стебля (рис. 2.14).

2.10. АПЕКС ПОБЕГА КАК САМОДЕТЕРМИНИРУЮЩАЯСЯ ЗОНА

Тот факт, что прокамбиальные тяжи можно обнаружить ниже уровня листового примордия еще до его появления, ставит перед нами вопрос, играет ли прокамбий какую-либо роль в детерминации исходного положения листового примордия. Если да, то это должно означать, что активность и ориентация

апекса побега находятся под влиянием и регулируются уже дифференцированными зонами побега. Однако ряд данных, по-видимому, свидетельствует против такого заключения.

Во-первых, ясно, что в процессе развития зародыша организованный апекс побега возникает *de novo*; это можно наблюдать в культуре свободных клеток, где развивающийся зародыш не подвержен влиянию каких-либо окружающих проводящих тканей (с. 242). Сходным образом из недифференцированных тканей могут спонтанно возникать почки. Например, если корни цикория (*Cichorium*) или одуванчика (*Taraxacum*) разрезать на кусочки, то при благоприятных условиях они могут регенерировать почки побегов прямо на поверхности срезов с верхней стороны (рис. 1.15). В каллусных культурах различных видов будут также развиваться адвентивные почки (с. 240). Такие наблюдения наводят на мысль, что апекс побега представляет собой устойчивую конфигурацию клеток, которая «выкристаллизовывается» из массы недифференцированной ткани при благоприятных условиях. Иными словами, апекс побега является самоорганизующейся зоной.

Еще одним подтверждением самодетерминации апекса служат данные, полученные в эксперименте с *Lupinus albus*. Когда апекс растения разделили на четыре сектора путем сделанных вертикально через центр радиальных разрезов, каждый из этих секторов регенерировал в нормальный апекс.

В других экспериментах апекс изолировали от окружающих тканей четырьмя вертикальными надрезами, так что он оставался на столбике паренхимной ткани (рис. 2.15). В таких

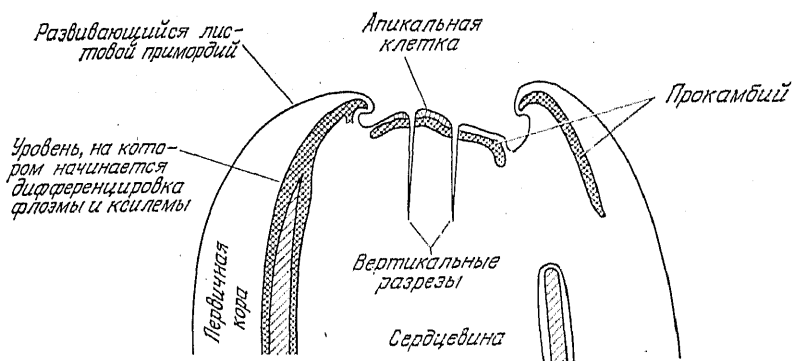


Рис. 2.15. Эксперимент с хирургической изоляцией апикальной меристемы от проводящих тканей у побега *Dryopteris aristata*. (С. W. Wardlaw, 1947.) На продольном срезе видны два вертикальных разреза, изолирующие апикальную меристему. В результате связь между меристемой и проводящими тканями осуществляется только через столбик паренхимных сердцевинных клеток. Тем не менее апекс продолжает расти, образуя новые листовые примордии и развивая нормальные проводящие ткани.

условиях, когда влияние проводящих тканей более старых частей побега было исключено, апексы как *Lupinus*, так и *Dryopteris* продолжали нормально образовывать новые листовые примордии в обычной филлотаксической последовательности, еще раз свидетельствуя о присущем апексу свойстве самодетерминации. И в самом деле, не будучи регулируемы акропетальным развитием прокамбиальных тканей, развивающиеся почки и листья оказывают стимулирующее воздействие на дифференцировку проводящих пучков в расположенных ниже тканях побега. Например, если листовой примордий удалить из апекса побега на очень ранней стадии его развития, то проводящие ткани в стебле не развиваются или, как у папоротников, могут значительно меняться или редуцироваться. Вместе с тем в каллусной культуре цикория или сирени нет дифференцированных проводящих тканей, но если на каллус привить почку, то ниже места прививки образуются 'проводящие' пучки (с. 185).

Стимулирующий эффект почки на развитие проводящих тканей, по-видимому, обусловлен действием гормонов, особенно ауксинами и гиббереллинами, которые в ней синтезируются (с. 185—186). Имеются также данные, свидетельствующие о том, что гормоны играют важную роль в регенерации проводящей ткани (с. 186—187).

Из приведенных здесь различных данных очевидно, что в отношении собственной активности вегетативный апекс побега является самодетерминирующейся зоной. Однако при переходе к генеративному развитию у многих видов трансформация вегетативного апекса в генеративный происходит под влиянием стимулов, возникающих в зрелых листьях, расположенных в более старых частях растения (с. 327).

2.11. АПЕКС КОРНЯ

Апекс корня и апекс побега имеют как черты сходства, так и различия. Апекс корня не образует боковых органов, таких как листья, поэтому рост корня более единообразен, и корень не подразделяется на узлы и междоузлия. Кроме того, кончик корня покрыт корневым чехликом, отсутствующим у апекса побега.

Путем тщательного изучения закономерностей деления в апикальной зоне корня можно установить происхождение основных зон дифференцированного корня — эпидермы, первичной коры и центрального цилиндра — из определенных групп инициальных клеток, расположенных в главной зоне клеточного деления, *промеристеме* (рис. 2.16, А). Однако идентифицировать инициальные клетки чрезвычайно трудно, и до сих пор существуют различные мнения относительно их числа в

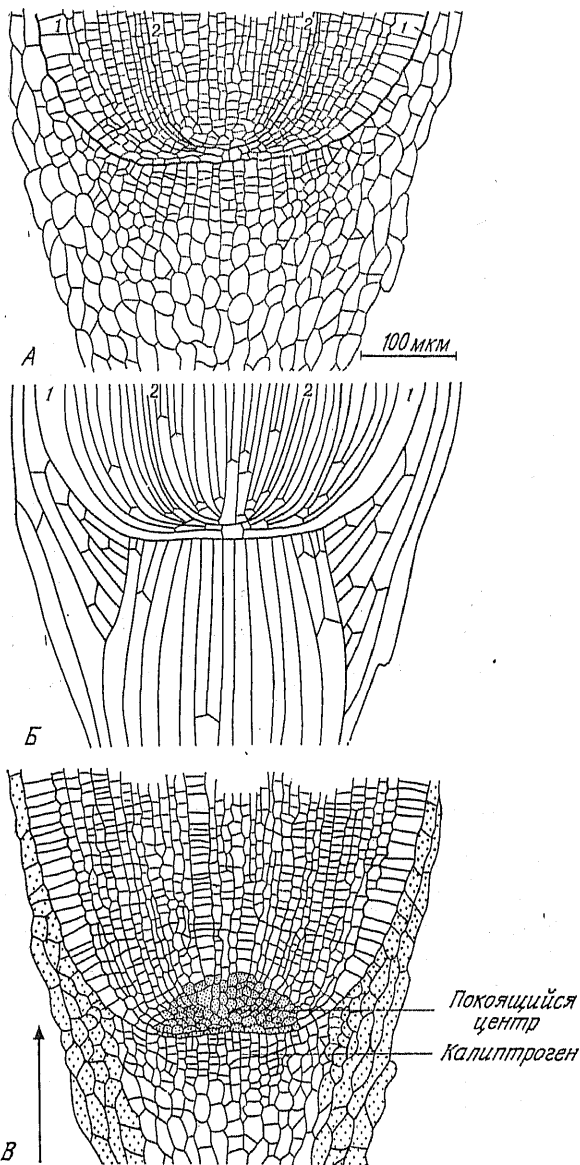


Рис. 2.16. А. Б. Продольный медианный срез корня кукурузы (*Zea mays*). (Clowes, 1961.)

Если на А видны лишь контуры отдельных клеток, то на Б наметилась последовательность в распределении клеточных делений в меристематической зоне. 1 — эпидерма; 2 — внешний слой стелы. В. Продольный срез корня кукурузы, показывающий положение зоны покоя. (Clowes, Juniper, 1968; см. дополнительную литературу.)

корнях. Некоторые авторы утверждают, что число инициальных клеток относительно небольшое — быть может, три или даже одна. Вместе с тем Клаус получил данные о том, что в кончиках корней *Zea mays* и других видов имеется группа довольно инертных клеток, образующих *покоящийся центр* (рис. 2.16, Б), и что активно делящиеся инициальные клетки располагаются на границе или на «поверхности» этого покоящегося центра, в результате чего зона активно делящихся клеток принимает форму перевернутой «чашки». Для изучения этого вопроса применялся ряд методик, в том числе радиоавтография с использованием радиоактивного ^3H -тимидина, позволяющего установить зоны активного синтеза ДНК и клеточного деления. Ядро, в котором происходит синтез ДНК, включает

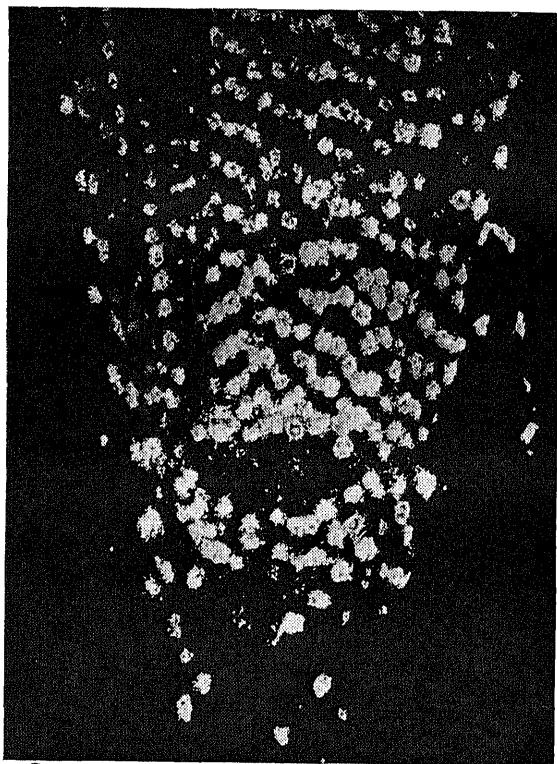


Рис. 2.17. Радиоавтография среза кончика корня горчицы (*Sinapis*), сфотографированного в темном поле. (Clowes, Juniper, 1968.) Зерна серебра (белые точки) сконцентрированы в ядрах, в которых в течение 48 ч происходит синтез ДНК; на протяжении этого времени растению поставлялся меченный тритием тимидин. Обратите внимание на покоящийся центр, ядра которого не содержат метки.

тимидин, тогда как в клетках, не синтезирующих ДНК, ядра тимидин не включают (рис. 2.17). Таким путем у различных видов было точно установлено существование покоящегося центра. Функция покоящегося центра все еще не ясна.

Инициальные клетки и их непосредственные производные не вакуолизованы, и в этой зоне активное клеточное деление продолжается. Однако по мере удаления от кончика корня деления становятся менее частыми, а сами клетки вакуолизируются и увеличиваются в размерах. У многих видов (например, у пшеницы) в корне четко выделяются зона клеточного деления и зона клеточного растяжения, однако у других, например бука лесного (*Fagus sylvatica*) в клетках, которые уже начали вакуолизироваться, может происходить определенное число делений.

Границы будущих центрального цилиндра, первичной коры и эпидермы становятся различными уже на небольшом расстоянии от апикальных инициалей. Эти зоны можно отличить друг от друга по размерам клеток и по плоскостям делений; так, клетки внутренних слоев первичной коры обычно делятся периклинально, тогда как плоскости клеточных делений в будущих проводящих тканях менее регулярны.

Эндодерма различима на очень ранней стадии как самый внутренний слой первичной коры, тогда как самый внешний слой центрального цилиндра — перицикл — в некоторых корнях можно различить на расстоянии 100 мкм или менее от апикальной инициальной зоны.

Прокамбий развивается акропетально, и дифференцировка ксилемы и флоэмы идет в одном и том же направлении. Первые видимые в центральном цилиндре изменения можно обнаружить, когда за счет радиального увеличения размеров отдельных клеток намечаются будущие ксилемные группы. Вместе с тем первые клетки, которые должны дифференцироваться в зрелые, — это ситовидные элементы протофлоэмы, которые у медленно растущих корней располагаются на расстоянии 230 мкм от промеристемы. Таким образом, очевидно, что гистогенез может происходить на очень небольшом расстоянии от самой промеристемы (рис. 2.18).

Ранее было показано, что во многих отношениях апекс побега является самодетерминирующей зоной, и это положение, по-видимому, также справедливо и для апекса корня. Следовательно, дифференцировка проводящей системы должна, вероятно, регулироваться самим апексом. Например, если 2 мм апикальной части корня отрезать и, повернув вокруг продольной оси, вернуть на место, то проводящая ткань, которая позднее дифференцируется в кончике, не соединяется с проводящей тканью корня. В другом эксперименте Торри отрезал самые кончики корней *Pisum sativum* и выращивал их в соот-

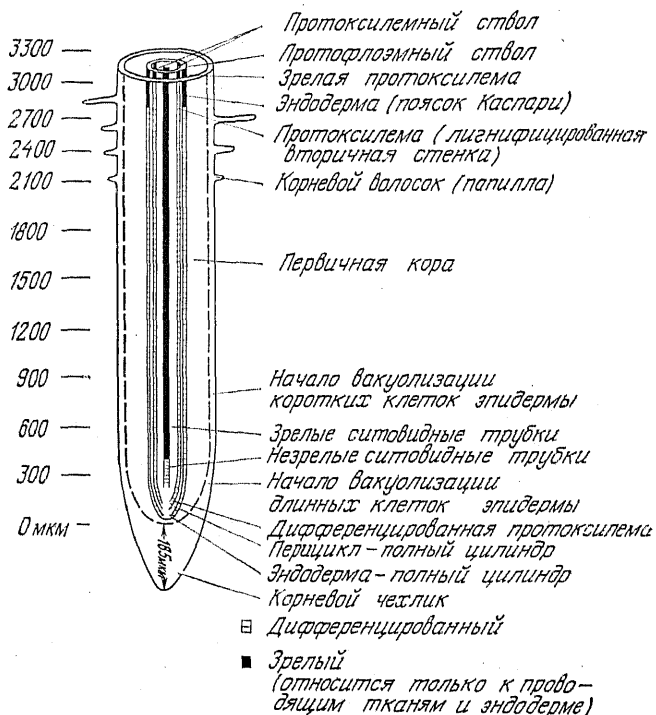


Рис. 2.18. Схема кончика корня *Sinapis alba*, иллюстрирующая уровни дифференцировки различных тканей. (Peterson, Can. J. Bot., 45, 319, 1967.)

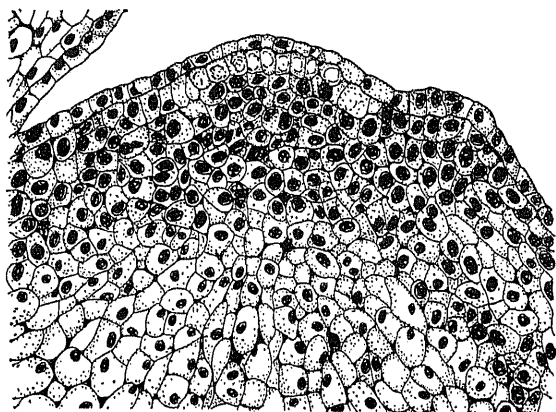
ветствующей культуральной среде. В результате было обнаружено, что если естественные корни имели триархную ксилему (т. е. три протоксилемные группы), то некоторые из регенерировавших корней обнаруживали диархную структуру. Следовательно, экспериментальная процедура нарушила естественный характер дифференцировки, а новый характер определяется меристемой.

2.12. ЗАЛОЖЕНИЕ И РАЗВИТИЕ ЦВЕТКА

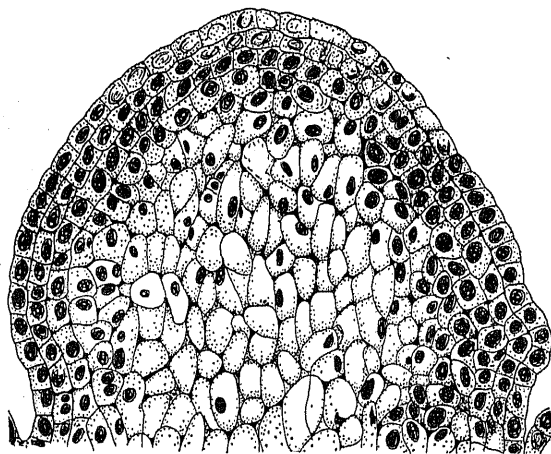
Рано или поздно один или более вегетативных апексов растения перестает образовывать листья и почки и становится генеративным. Такой переход сопровождается серьезными изменениями в структуре апекса побега.

У *Xanthium*, соцветие которого представляет собой головку, первое видимое изменение выражается в увеличении числа клеточных делений в зоне корпуса между центральной материнской зоной и колончатой меристемой (рис. 2.19, А), и эта ак-

тивизация клеточного деления постепенно распространяется в центральную зону и далее в периферическую. У других видов, например *Anagallis arvensis* и *Sinapis alba*, первые изменения происходят сначала в периферической зоне, а затем распространяются в центральную. В результате таких изменений апикаль-



А



Б

Рис. 2.19. А. Медианный срез через апикальную меристему побега *Xanthium strumarium* во время перехода из вегетативного в генеративное состояние. Активные клеточные деления происходят в области между центральной материнской зоной и колончатой меристемой; зональность, характерная для вегетативного апекса, частично сглаживается. Б. Ранняя стадия развития генеративного апекса. «Мантия» из меристематических клеток покрывает увеличившиеся клетки центральной колончатой меристемы. (F. B. Salisbury, *The Flowering Process*, Pergamon Press, Oxford, 1963.)

ная зона побега превращается в структуру, содержащую в середине вакуолизированные клетки, окруженные «мантей» из меньших по размеру, интенсивно окрашивающихся меристематических клеток (рис. 2.19, Б). Эти изменения приводят к тому, что высота апикальной зоны у многих видов значительно увеличивается, однако у видов, имеющих соцветие головку, например у сложноцветных, апикальная зона может становиться более плоской.

Последовательные стадии развития отдельного цветка у разных видов значительно варьируют. Согласно классической точке зрения, цветоложе цветка представляет собой модифицированный вегетативный побег и отличается от последнего лишь тем, что не обладает способностью к неограниченному росту и имеет только короткие «междоузлия». Развитие цветка у таких видов, как барвинок (*Vinca rosea* L.), подтверждает эту точку зрения, поскольку на ранних стадиях развития его апекс все еще сохраняет структуру, характерную для вегетативного апекса. Внешние части цветка, такие, как чашелистики и лепестки, закладываются первыми, а затем происходит инициация тычинок и плодolistиков (рис. 2.20).

Заложение и раннее развитие различных частей цветка протекают так же, как заложение и раннее развитие листа (рис. 2.21), хотя в дальнейшем пути их развития расходятся. Например, на поздних стадиях развития тычинки в результате интеркалярного роста в базальной зоне образуется будущая тычиночная нить, тогда как дистальная часть дает начало пыльнику.

В цветках с апокарпным гинецеем, т. е. со свободными плодolistиками, первая стадия развития плодolistика начинается с образования округлого примордия, похожего на при-

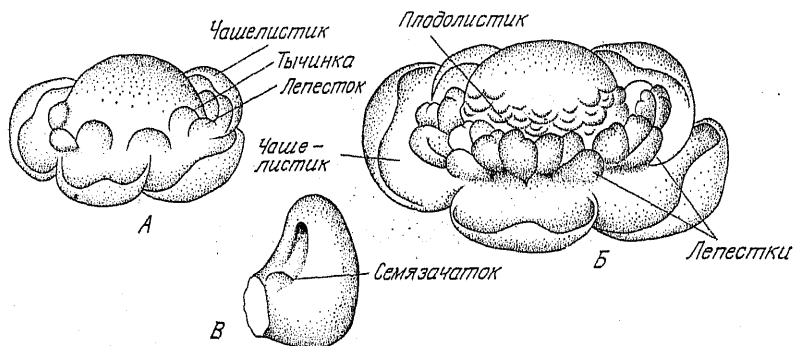


Рис. 2.20. Развитие цветка *Ranunculus trilobus*. А. Б. Две стадии развития всего цветка. В. Развивающийся плодolistик. (По Payer, *Traité d'organogénie comparée de la fleur*, Paris, 1857. Перепечатано из A. Fahn, *Plant Anatomy*, Pergamon Press, 1967.)

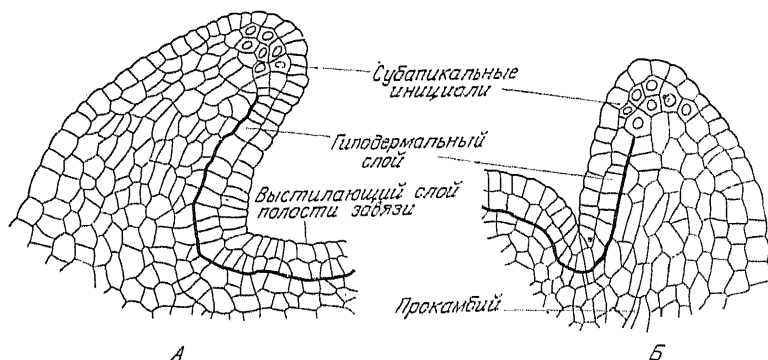


Рис. 2.21. Примордий плодолистика (А) и тычинки (Б) *Fraxera carolinensis*, растущие субапикальными инициалами. (A. S. Foster, E. M. Gifford, Comparative Morphology of Vascular Plants, W. H. Freeman and Co., San Francisco and London, 1959.)

мордии других органов. По мере роста примордия на его верхушке образуется углубление. В результате дальнейшего дифференциального роста каждый плодолистик приобретает подковообразную форму (рис. 2.20). Далее плодолистики растут вверх, их края встречаются и срастаются между собой. В процессе срастания происходит взаимопроникновение клеток двух примыкающих друг к другу поверхностей, а у некоторых видов в различных местах могут происходить клеточные деления, так что исходные границы делаются трудноразличимыми. Такой тип срастания характерен и для развития синкарпной завязи у многих растений, у которых два и большее число вначале отдельных плодолистиков срастаются своими краями (рис. 2.22). Срастание плодолистиков может распространяться на столбик и рыльце или же эти части каждого исходного плодолистика могут оставаться раздельными. Срастание частей цветка, которые на ранних стадиях развития были раздельными, называется *онтогенетическим*, или *постгенитальным*, срастанием.

Срастание плодолистиков или других органов, включая чашелистики и лепестки, может также происходить за счет зонального роста. Так, у цветков первоцвета (*Primula vulgaris*) со спайночашелистиковой чашечкой и спайнолепестным венчиком эти части вначале представлены изолированными долями (т. е. как отдельные примордии чашелистиков и лепестков), но позднее ростовая активность распространяется в промежуточные между ними зоны и формируется сплошное кольцо растущих тканей, верхний край которого образован собственно примордиями чашелистиков и лепестков. В этом случае не происходит срастания ранее раздельных поверхностей и струк-

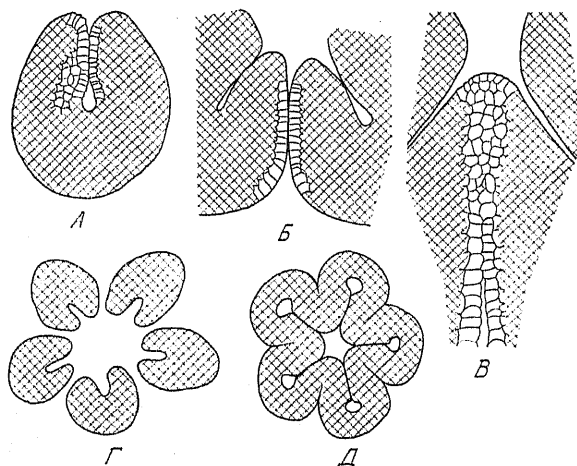


Рис. 2.22. Примордии плодolistиков и их срастание у *Aquilegia truncata* var. *formosa*. (A. S. Foster, E. M. Gifford, 1959 по Tepfer.)

А. Поперечный срез плодolistика, на котором видно заложение семязачатка (две гиподермальные клетки с ядрами) в дистальной части по краю. Б. В. Стадии онтогенетического срастания краев двух соседних плодolistиков. Б. Край плодolistиков соприкасаются, границы эпидермальных слоев четко различимы. В. Край плодolistиков срослись, граница между эпидермальными слоями делается неразличимой. Г. Поперечный срез, иллюстрирующий типичную подковообразную форму примордиев свободных плодolistиков. Д. Поперечный срез, иллюстрирующий постгенитальное срастание примордиев плодolistиков.

туры, образованные в результате такого зонального роста, называются *конгенитально слившимися*. Более подробные сведения о развитии пыльцевых зерен и семязачатков можно найти в других работах [например, Cutter (1978)].

2.13. ИЗМЕРЕНИЕ РОСТА

До сих пор основное внимание уделялось качественным и описательным аспектам роста. Однако не менее важно изучать рост и в количественном отношении, для чего нам необходимы методы измерения роста.

Как мы уже убедились, рост включает увеличение количества живой материи. Тем не менее не всегда легко измерить это увеличение, не нарушив при этом целостности организма. Кроме того, если мы будем просто учитывать материал протопласта (цитоплазму и ядро), то тем самым не включим такой материал, как клеточные стенки, которые являются неотъемлемой частью тела растения.

Возможен и другой подход к решению этой проблемы. Поскольку рост в основном включает увеличение числа клеток,

для его измерения можно использовать именно этот критерий. Следовательно, рост какой-либо колонии одноклеточных организмов может быть измерен путем подсчета числа отдельных клеток.

В многоклеточных организмах, какими являются высшие растения, рост также большей частью происходит за счет увеличения числа клеток, однако совершенно ясно, что подсчитывать клетки в растении неудобно, да и вообще вряд ли возможно. Тем не менее увеличение числа клеток, сопровождающееся их ростом, приводит к увеличению *размеров*, и, в случае с корнем или неветвящимся побегом, вполне удобно измерять рост просто как увеличение длины или высоты за единицу времени. Однако такой метод обычно не применим для сложных корневых или побеговых систем, поскольку если мы изучаем рост целого растения, то имеем дело с общим новообразованием ткани, а при этом лучше изучить изменение сухого веса растения, который будет отражать действительное количество нового органического материала, синтезированного растением. Впрочем, даже изменение сухого веса не всегда служит удовлетворительной мерой роста, потому что сухой вес тканей растения может увеличиваться за счет накопления запасных веществ, таких, как крахмал и жир, а не за счет роста. Напротив, при прорастании семени может наблюдаться общая потеря сухого веса за счет использования резервов на дыхание, хотя несомненно, что оно при этом растет.

2.14. РОСТ КОЛОНИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ

Прежде чем рассматривать кривые роста высших растений, полезно познакомиться с ростом одноклеточных организмов, таких, как бактерии или дрожжи, размножающихся делением или «почкованием», или же многоклеточных, таких, как ряска (*Letna*), которая также размножается почкованием.

Рассмотрим рост колонии бактерий, выращиваемых в постоянных условиях, обеспечивающих постоянную скорость деления клеток. Примем также, что все клетки в колонии делятся синхронно, т. е. одновременно. (Синхронное деление может достигаться в культурах некоторых организмов.) Если начальное число клеток в колонии равно n_0 , а число клеток после данного числа делений n , то

в конце первой генерации $n = n_0 \cdot 2$;

в конце второй генерации $n = n_0 \cdot 2 \cdot 2$;

в конце x -й генерации $n = n_0 \cdot 2^x$.

Это последнее отношение показывает, что число клеток в колонии возрастает в геометрической прогрессии, или экспоненциально, т. е. с постоянно возрастающей скоростью. Если мы

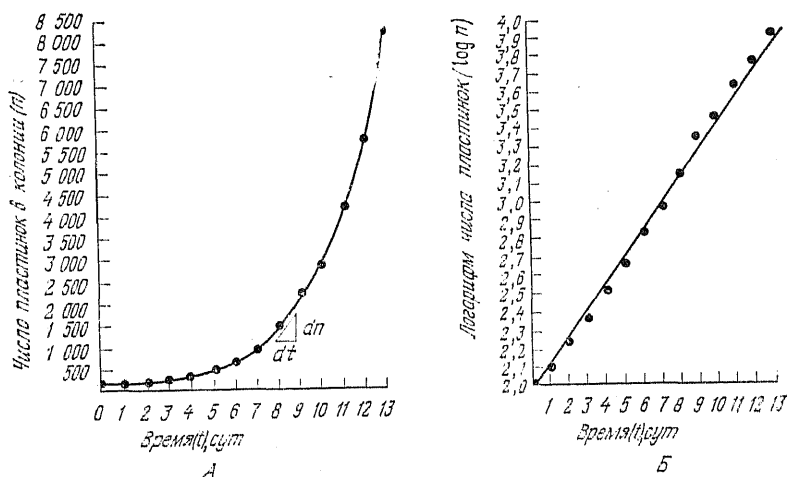


Рис. 2.23. А. Кривая роста колонии ряски (*Lemna*), почкующейся синхронно с постоянной скоростью. Исходное число пластинок принято за 10. Б. Рост колонии ряски в культуре. Линейная зависимость между логарифмом числа пластинок ($\log n$) и временем (t). Е. Ashby, Т. А. Oxley, Ann. Bot., 49, 309, 1935.)

построим график зависимости n от числа генераций, то получим кривую, представленную на рис. 2.23, А.

Перепишем уравнение $n = n_0 \cdot 2^x$ в виде

$$\log n = \log n_0 + x \log 2. \quad (1)$$

Нетрудно заметить, что мы имеем уравнение, выражающее соотношение между числом клеток в колонии n и числом прошедших генераций x , но нам, естественно, нужно соотношение между n и t — временем. Теперь если t — время, необходимое для x генераций, а время одной генерации (т. е. время между двумя последующими делениями) — g , то $x = t/g$.

Подставляя это значение в уравнение (1), получаем

$$\log n = \log n_0 + (t/g) \cdot \log 2.$$

Здесь $\log 2/g$ является константой (k), следовательно,

$$\log n = \log n_0 + kt. \quad (2)$$

Теперь уравнение (2) стало линейным уравнением типа $y = a + bx$, где $\log n_0$ соответствует a , и k соответствует b . Таким образом, если мы отложим значения логарифмов числа клеток в колонии в зависимости от времени t , то должны получить прямую линию. Было обнаружено, что полученное соотношение и в самом деле справедливо для различных организмов, растущих при постоянных условиях, независимо от того,

размножаются ли они простым делением, как бактерии, или почкованием, как дрожжи или ряска (рис. 2.23, Б). О колонии, растущей таким образом, говорят, что численность ее увеличивается «логарифмически», или «экспоненциально».

Рассмотрим тип кривой, представленной на рис. 2.23, А и показывающей увеличение числа «пластинок» ряски в колонии; *скорость роста* колонии в какой-либо промежуток времени в данном случае будет равна увеличению числа клеток (dn) за некий очень короткий интервал времени dt ; иными словами, скорость роста будет равна dn/dt .

Величина dn/dt представляет собой *наклон* кривой в какое-то данное время t , и из графика будет видно, что со временем эта величина прогрессивно возрастает. Если все клетки делятся с одинаковой скоростью r в течение какого-то времени t , то скорость роста колонии становится пропорциональной числу присутствующих клеток, т. е. dn/dt меняется как n . Таким образом, хотя скорость деления клеток (r) остается постоянной, *абсолютная скорость роста* колонии изменяется, поскольку с течением времени число клеток в колонии увеличивается. Если значение r , выраженное как dn/dt (т. е. увеличение числа клеток за данный короткий промежуток времени), разделить на число делящихся клеток, т. е.

$$r = \frac{dn}{dt} \cdot \frac{1}{n},$$

то получится выражение для *относительной скорости роста* колонии. Итак, для колонии, характеризующейся таким типом роста, абсолютная скорость роста со временем увеличивается, но относительная скорость роста остается постоянной.

Выше было показано [уравнение (2)], что

$$\log n = \log n_0 + kt.$$

Это уравнение может также быть записано в виде

$$n = n_0 e^{kt}, \quad (3)$$

где e — основание натуральных логарифмов (2,7182).

На практике неограниченный рост колонии не может продолжаться бесконечно долго, и рано или поздно какие-либо факторы, например наличие питательных веществ, станут лимитирующими и вызовут снижение скорости роста. В условиях культуры имеющийся, например, в колбе или пробирке запас питательных веществ в конечном итоге будет израсходован и рост колонии прекратится. В этом случае вместо типичной экспоненциальной кривой роста мы получим сигмоидную кривую (рис. 2.24, А), когда скорость роста возрастает до определенного значения, а затем снижается до нуля. При такой зависимости $\log n$ от t кривая роста вначале будет представле-

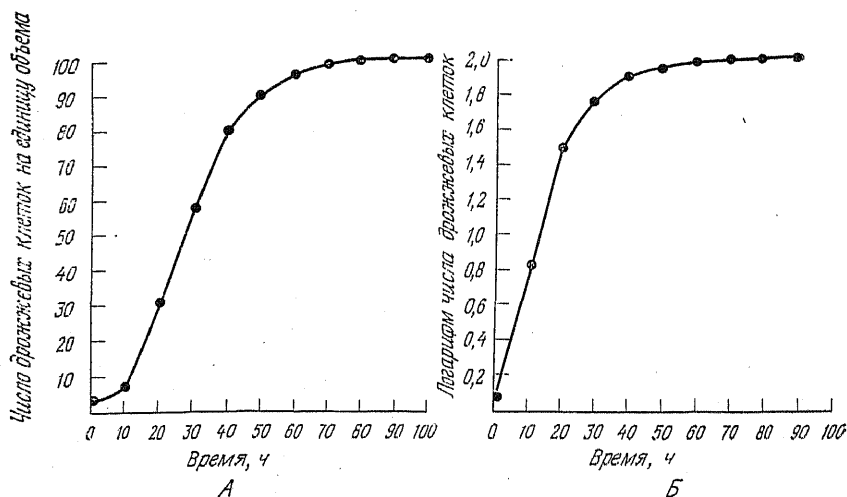


Рис. 2.24. Рост колонии дрожжей в постоянном объеме культуральной среды. (O. W. Richards, Ann. Bot., 42, 271, 1928.)

А. Сигмоидная кривая роста отражает зависимость числа клеток (n) от времени. Б. Зависимость логарифма числа клеток ($\log n$) от времени.

на прямой линией, которая затем выходит на плато (рис. 2.24, Б). Кроме фактора питания рост колонии может лимитироваться некоторыми токсическими веществами, образующимися в процессе роста. Ограничение роста этим фактором часто наблюдается в культурах бактерий, грибов, *Chlorella* и др.

2.15. РОСТ МНОГОКЛЕТОЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ

2.15.1. Экспоненциальная фаза

Сигмоидный тип кривой роста, рассмотренный для колоний одноклеточных организмов, характерна также для роста некоторых многоклеточных растений. Эта закономерность справедлива не только для роста всего растения (рис. 2.25), но также и для роста отдельных органов или частей, таких, как листья (рис. 2.26) или междоузлия. Вначале размеры (или вес) организма увеличиваются в геометрической прогрессии, или экспоненциально. В. Блэкман (1919) показал, что во время этой начальной фазы рост проростков совершенно точно подчиняется «закону сложных процентов» и выражается уравнением

$$W = W_0 e^{rt}, \quad (4)$$

где W — вес растения спустя время t ; W_0 — исходный вес ра-

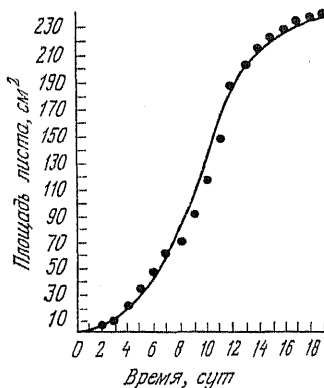
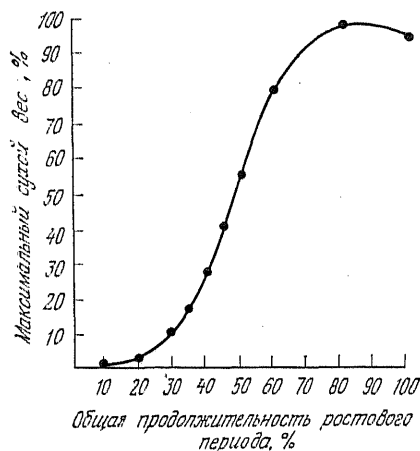


Рис. 2.25. Увеличение сухого веса растений ячменя во время ростового сезона. (F. G. Gregory, Ann. Bot., 40, 1, 1926.) Точки для таких кривых получены в результате модификации оригинальных данных.

Рис. 2.26. Сигмоидная кривая роста листа огурца (*Cucumis sativa*). (F. G. Gregory, Ann. Bot., 35, 93, 1921.)

стения; r — процентная (или пропорциональная) скорость увеличения¹; e — основание натурального логарифма ($=2,7182$). Это уравнение аналогично уравнению (3), приведенному выше для роста колонии, и может быть получено сходным путем. Из уравнения (4) можно записать:

$$\log W = \log W_0 + rt \log e.$$

Это уравнение также можно представить в форме $y = a + bx$. Иными словами, если мы на оси ординат отложим логарифмы веса в зависимости от t , то получим прямую линию (по крайней мере для начальной фазы роста, которую мы сейчас и рассматриваем), что действительно наблюдается в ряде случаев.

Из уравнения (4) ясно, что окончательная масса будет зависеть от 1) исходного веса, 2) «процентной скорости» (r) и 3) времени. «Процентная скорость» обозначает эффективность растения в синтезе нового живого материала и названа Блэкманом *индексом эффективности* образования сухого веса. Небольшое различие в индексе эффективности двух растений значительно повлияет на общий урожай, и это влияние будет увеличиваться с увеличением периода роста.

¹ Тот же символ r был использован для обозначения рассмотренной выше скорости деления клеток в колонии бактерий, поскольку в обоих случаях r представляет собой относительную скорость роста независимо от того, измеряется ли она скоростью увеличения числа клеток или увеличением сухого веса.

Необходимо отметить, что индекс эффективности — это просто другой способ выражения *относительной скорости роста* ($dW/W \cdot dt$), описанной для роста колонии. Однако если индекс эффективности (или относительная скорость роста) во время экспоненциальной фазы роста остается постоянным, то *абсолютный* прирост за единицу времени прогрессивно увеличивается. Абсолютный прирост, определенный за интервал времени dt , совершенно очевиден:

$$W \cdot \frac{r}{100} \cdot dt.$$

Следовательно, абсолютная скорость роста в любое данное время пропорциональна размеру растения в это время.

Физиологическая основа этого последнего заключения легко объяснима. Когда у молодого проростка начинается активный фотосинтез, то совершенно очевидно, что интенсивность образования нового материала (и, следовательно, увеличение сухого веса) строго зависит от площади его листовой поверхности. Таким образом, по мере роста растения и увеличения площади его листовой поверхности скорость ассимиляции нового материала будет пропорционально увеличиваться.

2.15.2. Поздние фазы роста

Если скорость роста (dn/dt) колонии бактерий в конце концов резко падает, что обусловлено израсходованием питательных веществ или накоплением токсических продуктов жизнедеятельности, то скорость роста многоклеточных организмов снижается постепенно, выражаясь в виде сигмовидной кривой роста. Абсолютная скорость роста (dW/dt) представляет собой наклон кривой роста в какое-то время t , и если мы нанесем на ось ординат изменения этой скорости в зависимости от времени, то получим кривую, представленную на рис. 2.27, А. Мы видим, что скорость роста достигает своего максимума (совпадающего с точкой перегиба S-образной кривой роста) и затем падает до нуля. Вместе с тем если мы построим график зависимости относительной скорости роста ($dW/W \cdot dt$) от времени, то скорее всего получим кривую, которая представлена на рис. 2.27, Б. Из графика видно, что вначале относительная скорость роста (ОСР) остается почти постоянной, но в дальнейшем начинает снижаться. Изменения ОСР во времени значительно варьируют, что связано как с видовой принадлежностью растения, так и с условиями роста. Иногда ОСР устойчиво снижается с момента начала роста, так что истинная экспоненциальная фаза отсутствует.

Причина снижения ОСР не совсем ясна, и для ее объяснения предложены различные гипотезы. Совершенно ясно, что

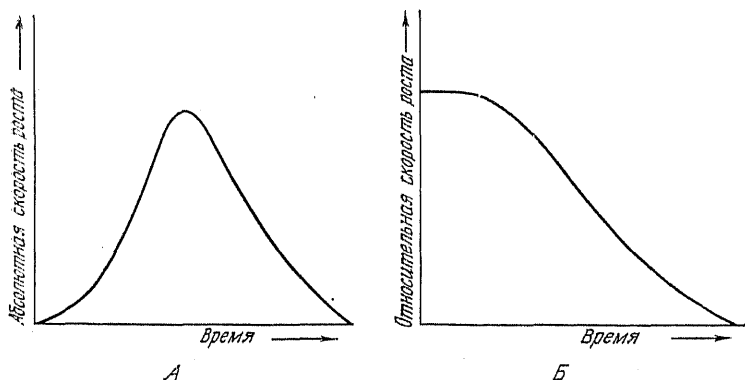


Рис. 2.27. Изменения (А) абсолютной скорости роста (dW/dt) и (Б) относительной скорости роста ($dW/W \cdot dt$), где изменения сухого веса следуют по типу кривой, представленной на рис. 7.10.

дефицит некоторых питательных веществ не может служить причиной, как это имеет место в колониях одноклеточных организмов, выращиваемых в искусственных условиях. Однако предположили, что причина отклонения от «экспоненциального» роста у нормальных растений заключается в том, что часть образующейся в процессе роста живой материи идет на строительство механических, проводящих и других тканей, которые сами не способны к синтезу новой живой материи. Следовательно, листья, самым непосредственным образом связанные с синтезом новой материи, составляют все меньшую и меньшую часть общего веса растения, т. е. значение отношения

$$\frac{\text{Общий сухой вес листьев } (L),}{\text{Общий сухой вес растений } (W)},$$

известное как листово-весовой коэффициент, постепенно уменьшается.

Итак, относительная скорость роста (R) определяется как

$$R = \frac{dw}{dt} \cdot \frac{1}{W}.$$

Умножая числитель и знаменатель на L , получаем

$$R = \frac{dw}{L} \cdot \frac{L}{W} \cdot \frac{1}{dt}.$$

Здесь $dw/L \cdot dt$ представляет собой скорость увеличения сухого веса на единицу сухого веса листа и известна как *чистая скорость ассимиляции* (E_w), служащая мерой фотосинтетической активности минус потери, связанные с дыханием, т. е. E_w — мера чистой эффективности растения в образовании сухой массы.

Теперь мы имеем следующую простую зависимость между тремя параметрами:

$$R = E_w \cdot \frac{L}{W}. \quad (5)$$

Если принять, что с возрастом растения E_w заметно не меняется, то падение с возрастом R в первую очередь должно быть связано с падением L/W по уже указанным причинам. Однако в процессе роста как E_w , так и L/W чаще всего снижаются, обуславливая тем самым снижение R .

В приведенном обсуждении мы выразили чистую скорость ассимиляции (E_w) через скорость увеличения общего сухого веса листа, однако фотосинтетическую активность удобнее выразить как скорость на единицу *площади* листа. При этом чистая скорость ассимиляции может быть легко выражена и через площадь листа следующим уравнением:

$$E_w = E_A \cdot \frac{L_A}{L_w},$$

где E_A — скорость увеличения сухого веса на единицу листовой площади, а L_A/L_w — отношение листовой площади к сухому весу, известное как *удельная листовая площадь*.

Следовательно, уравнение (5) может быть переписано в виде

$$R = E_A \cdot \frac{L_A}{L_w} \cdot \frac{I_w}{W}.$$

Вышеуказанные простые математические выражения использовались для анализа роста сельскохозяйственных культур. Так, определение относительных скоростей роста для различных сельскохозяйственных растений дает нам полезную основу для сравнения скоростей их роста. Точно так же при определении чистой скорости и листово-весовых коэффициентов мы можем в какой-то степени установить, как возникают различия в R .

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Causton D. R., 1977. A Biologist's Mathematics, Edward Arnold.
 Clowes F. A. L., 1961. Apical Meristems, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
 Cutter E. G., 1978. Plant Anatomy: Experiment and Interpretation Part 2, 2nd ed., Edward Arnold, London.
 Evans G. C., 1972. The Quantitative Analysis of Plant Growth, Univ. of California Press, Berkeley.
 Sinnott E. W., 1960. Plant Morphogenesis, McGraw Hill Book Co., New York. [Имеется перевод: Синнот Э. Морфогенез растений. — М.: ИЛ, 1963.]
 Wardlaw C. W., 1968. Morphogenesis in Plants, Methuen & Co. Ltd., London.

Специальная литература

- Cutter E. G., 1965. Recent experimental studies of the shoot apex and shoot morphogenesis, *Bot. Rev.*, **31**, 7.
- Dormer K. J., 1972. Shoot Organisation in Vascular Plants, Chapman and Hall, London.
- Halperin W., 1978. Organogenesis at the shoot apex, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **29**, 239.
- Milthorpe F. L., Moorby J., 1979. An Introduction to Grop Physiology, 2nd ed., Cambridge University Press, London.
- Shininger T. L., 1979. The control of vascular development. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **30**, 313.
- Torrey J. G., Clarkson D. T., 1975. The Development and Function of Roots, Academic Press, London.
- Wardlaw C W., 1965. The organization of the shoot apex, *Encycl. Plant Physiol.*, **15**(1), 966.
- Wardlaw C. W., 1965. Organization and Evolution in Plants, Longmans, Green and Co. Ltd., London.

РАЗДЕЛ II

ЭНДОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

Введение

Упорядоченные изменения, столь характерные для развития, могут происходить только при наличии регуляторных механизмов, обеспечивающих координацию роста и дифференцировки как в *пространстве*, так и во *времени*. Например, развитие листового примордия сопровождается дифференцировкой проводящей системы в близлежащих тканях стебля. Точно так же росту зародыша после оплодотворения обычно сопутствует рост окружающих тканей завязи. Это примеры явления *корреляции*, которое мы подробнее рассмотрим в гл. 5.

Ростовые корреляции между отдельными частями можно наблюдать также и на уровне целого растения. Недетерминированный рост высших растений, осуществляемый верхушечными меристемами, приводит к постоянному приросту зрелых тканей в более старых частях растения при сохранении меристематической активности стеблевых и корневых апексов. Однако и в более старых частях остаются участки, потенциально способные к меристематической активности, такие, как камбий, пазушные почки, развивающиеся семена и плоды, а также запасающие органы. Поэтому в растении должны работать регуляторные системы, координирующие рост различных частей, т. е. осуществляющие *пространственную* координацию.

Необходима также *временная* координация развития, определяющая правильную последовательность событий на всех уровнях организации. Так, жизненный цикл всякого интактного растения состоит из ряда последовательных фаз: прорастание и вегетативный рост, цветение и плодоношение, созревание и старение, покой. Для соблюдения правильного порядка смены этих фаз, т. е. для координации событий во *времени* также должны существовать специальные регуляторные механизмы.

Регуляторный механизм может работать в растении либо спонтанно, иными словами его действие может быть *автономным*, либо он может активироваться или как-то иначе изменяться под влиянием факторов *внешней среды*. Обычно условия внешней среды примерно одинаковы для различных участков побега. Поэтому пространственная координация в растении, как правило, осуществляется автономными регуляторными си-

стемами, а внешние факторы чаще важны для временной координации.

Автономная регуляция проявляется как на *внутриклеточном*, так и на *межклеточном* уровнях организации. Отражением внутриклеточной регуляции развития служит активация и ингибирование различных ферментов на разных стадиях роста и дифференцировки клеток. Это достигается различными путями, в частности, путем регуляции синтеза нуклеиновых кислот и ферментов или путем активации и инактивации предсуществующих ферментов. Таким образом, в основе внутриклеточной регуляции развития безусловно лежит регуляция активности генов. Но и механизмы межклеточных взаимодействий, несомненно, в конечном счете определяются генотипом.

Глава 3

Фитогормоны и их метаболизм

3.1. ВВЕДЕНИЕ

Рост растений представляет собой сложный и динамичный, но строго контролируемый процесс. Это означает, что должна существовать интеграция и координация роста различных частей растения. В последующих главах мы найдем немало примеров таких корреляций роста. Совершенно ясно, что координированный рост различных частей растения должен осуществляться при участии какого-то регуляторного механизма. Кроме того, мы уже видели в предыдущих главах, что развитие таких органов, как листья или стебли, включает строго упорядоченную смену фаз клеточного деления и растяжения. Следовательно, происходит также координация роста *во времени*. В результате интенсивных исследований, длящихся уже многие годы, стало известно, что гормоны играют жизненно важную роль в регуляции не только роста растения как целого, но, по-видимому, и роста отдельных его органов. Теперь мы знаем, что существует по крайней мере три основных класса гормонов, стимулирующих рост, — *ауксины, гиббереллины и цитокинины*. Кроме того, в растениях содержатся и другие типы гормонов, в частности «ингибиторы роста», такие, как *абсцизовая кислота (АБК)*, а также газообразный гормон *этилен*, который, вероятно, принимает участие во многих ростовых явлениях.

Фитогормоны перемещаются по растению и влияют на рост и дифференцировку тех тканей и органов, куда они поступают, поэтому нам следует рассмотреть природу и роль этих гормонов. Слово «гормон» впервые было использовано физиологами животных для обозначения вещества, которое синтезируется в особых железах (железах внутренней секреции) и затем переносится током крови или лимфы в другие части тела, где его крайне низкие концентрации оказывают специфическое физиологическое действие. Фитогормоны в некотором отношении не соответствуют классическому представлению о гормонах, выработанному на основе исследований гормонов животных. Гормон животного представляет собой вещество, синтезирующееся в одном специальном органе, железе, и выделяющееся из нее, чтобы оказать типичное и, как правило, специфическое влияние на некотором расстоянии от места синтеза. В случае фито-

гормонов мы не всегда можем провести такую четкую границу между местом их синтеза и местом их действия, хотя существует немало экспериментальных данных (см. гл. 5 и 7), свидетельствующих о том, что и фитогормоны обычно оказывают свое действие не там, где они синтезируются. Еще одно различие между гормонами животных и растений заключается в том, что если большая часть гормонов животных оказывает специфическое действие, то фитогормоны вызывают широкий спектр ответных реакций в зависимости от типа органов и тканей, на которые они действуют. По этой причине фитогормоны часто называют другими терминами, такими, как «регуляторы роста» или «ростовые вещества». Но все же, несмотря на рассмотренные сложности, наиболее приемлемым нам кажется название «фитогормон», так как оно подразумевает, что эти вещества активны в крайне низких концентрациях и что во многих случаях они регулируют процессы в тканях, удаленных от места их синтеза.

Каждая химическая категория фитогормонов оказывает характерное влияние на рост и дифференцировку растительных клеток и тканей. Первыми из фитогормонов были открыты ауксины, поэтому мы начнем с очень краткого рассмотрения истории открытия и химических свойств ауксинов, а затем перейдем к гиббереллинам, цитокининам, этилену и, наконец, абсцизовой кислоте.

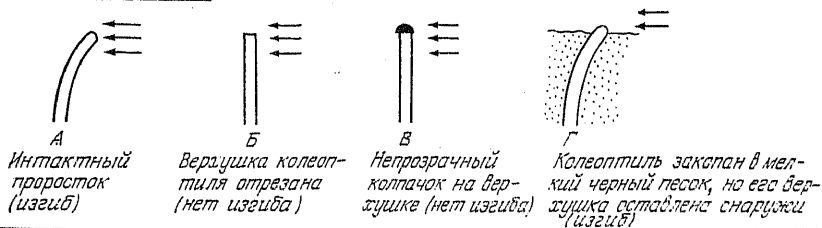
3.2. АУКСИНЫ

Основы современных знаний об ауксинах были заложены в работе Чарлза Дарвина, опубликованной почти столетие назад в книге, озаглавленной «О способности растений к движению». Дарвин исследовал явление *фототропизма* — изгибания органов растения в ответ на одностороннее освещение.

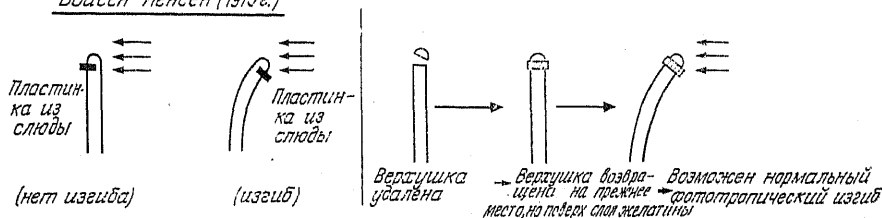
Дарвин работал с проростками декоративного растения канареечника канарского (*Phalaris canariensis*). Колеоптили проростков злаков оказались очень удобным объектом для изучения фототропизма, проводившегося Дарвином и более поздними исследователями. Однако именно Дарвин первым обнаружил, что *воспринимает* односторонние световые сигналы верхушка колеоптиля, а *изгибается* более базальная его часть (рис. 3.1). Дарвин пришел к выводу, что «когда проростки освещаются сбоку, какой-то фактор передается от верхушки вниз по колеоптилю, заставляя его изгибаться». Однако природа этого фактора была выяснена позже, в работах последователей Дарвина.

Различные исследователи 20—30-х годов XX в., среди которых были Бойсен-Иенсен и Пааль, провели опыты, показавшие, что влияние, оказываемое верхушкой колеоптиля на рас-

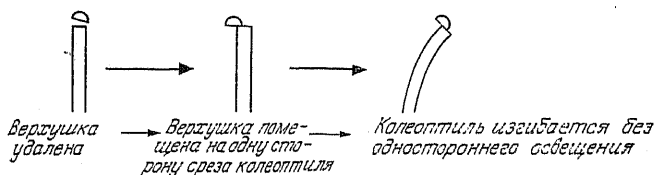
Дарвин (1880 г.)



Бойсен-Йенсен (1913 г.)



Пааль (1919 г.)



Вент (1928 г.)

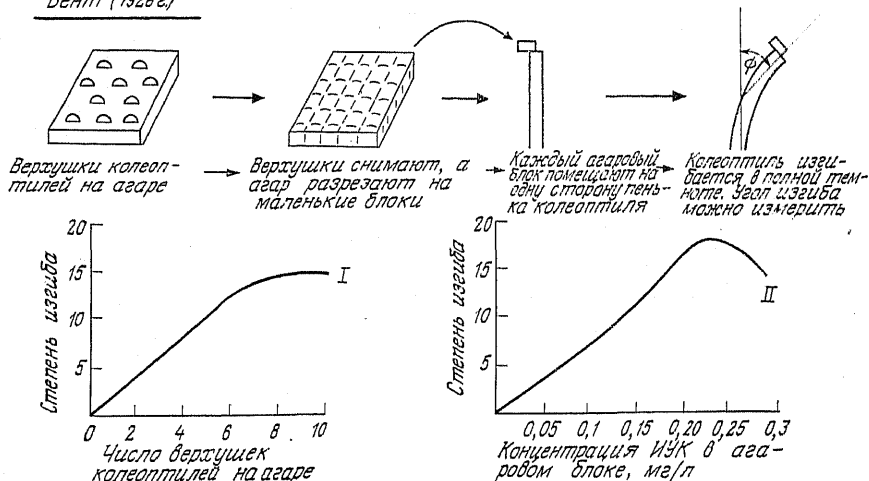


Рис. 3.1. Схематическое изображение хода основных экспериментов, в которых было установлено существование ауксина в растениях. Все опыты проводили с колеоптилями проростков злаков. Тройные стрелки показывают направление одностороннего освещения. Для предложенного Вентом биотеста приведены кривые зависимости степени изгиба колеоптилей от 1) числа колеоптилей, распределенных по агару (I), и 2) концентрации 3-индолуксусной кислоты (ИУК) в агаровом блоке (II).

положенные ниже участки, имеет чисто химическую природу (рис. 3.1). Пааль предположил, что какое-то вещество в условиях темноты или равномерного освещения постоянно движется вниз по всем сторонам колеоптиля, являясь стимуляторным фактором, обеспечивающим корреляции роста.

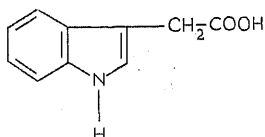
Первое успешное выделение этого химического фактора, несущего сигнал от верхушки колеоптиля, было осуществлено в 1926 г. голландцем Ф. Вентом, продолжившим работу Бойсен-Йенсена и Пааля. Вент обнаружил, что при помещении изолированной верхушки колеоптиля овса (*Avena*) на маленький блок агарового геля этот агаровый гель приобретал свойство стимулировать рост. И если такой блок уже без верхушки колеоптиля поместить асимметрично на декапитированный колеоптиль, то колеоптиль изгибается. Агаровый блок, предварительно не контактировавший с верхушкой, не оказывал такого влияния. Эти опыты позволили заключить, что химический регулятор диффундировал из кончика колеоптиля в агаровый блок. Когда впоследствии этот агаровый блок помещали на декапитированный колеоптиль, вещество диффундировало из блока в колеоптиль. Это было не только первое выделение ростового гормона из растения, но и разработка метода, позволившего Венту провести количественное определение этого гормона. Введенный Вентом метод является биометодом (*биотестом*), основанным на измерении угла изгиба декапитированного колеоптиля в ответ на одностороннее нанесение гормона в агаровом блоке (рис. 3.1).

Ростовой гормон, образующийся в верхушке колеоптиля, получил название *ауксин* (от греч. *auxein* — расти). Теперь известно, что ауксины образуются во *всех* высших растениях, а не только в проростках злаков. Как мы узнаем позже, ауксины играют важную роль в процессах роста и дифференцировки. Они, по-видимому, синтезируются главным образом в меристемах молодых развивающихся листьев, цветков и плодов.

3.2.1. Выделение и химическое строение ауксинов

Первые попытки выделить и химически охарактеризовать ауксин столкнулись с трудностями, связанными с крайне малыми количествами этого вещества в растительных тканях. В то время оказалось невозможным выделить из растений достаточно ауксина, чтобы приготовить для анализов чистый кристаллический препарат. Впервые кристаллический ауксин был получен из мочи человека. Первые попытки химически идентифицировать ауксин привели к противоречивым результатам, но, наконец, в 1934 г. было показано, что это вещество

представляет собой 3-индолилуксусную кислоту (сокращенно ИУК).



3-Индолилуксусная кислота (ИУК)

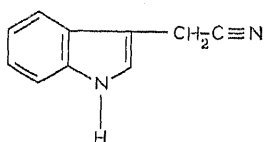
С тех пор как впервые было показано, что ИУК является ауксином, выяснилось, что это вещество очень широко распространено в растительном мире, и сейчас его считают основным ауксином высших растений.

Для выяснения истинной природы эндогенного (т. е. синтезируемого в растениях) ауксина до сих пор проводятся интенсивные исследования с использованием современных химических, физических и биологических методов. Как мы уже говорили, первое выделение ауксина из растений было достигнуто благодаря способности гормона диффундировать из ткани растения в подходящую инертную среду, например агаровый гель. Этот метод используют и сейчас, и полученный таким способом ауксин называют *диффундирующим*. Обычно же ауксины экстрагируют из растительных тканей органическими растворителями, такими, как диэтиловый эфир или метанол. Ауксины в диффузатах и экстрактах даже из одной и той же ткани часто различаются как в количественном, так и в качественном отношении.

Растительные экстракты разделяют с помощью хроматографии на ряд отдельных фракций. Затем каждую из этих фракций испытывают на присутствие в ней ауксина. Для этого обычно используют тот или иной биотест, например тест Вента, разработанный на coleoptiles *Avena*. С годами появился целый ряд других биотестов на ауксины, основанных на измерении какого-либо эффекта, оказываемого ауксином на растение. Один из самых широко распространенных тестов — измерение вытягивания coleoptiles в длину. Для этого равные по длине, например пятимиллиметровые, отрезки молодых coleoptiles *Avena* помещают на испытуемые экстракты и таким образом определяют присутствие в этих экстрактах стимуляторов роста. Однако, хотя биотесты совершенно необходимы в такого рода работах, все же в конце концов ауксин должен быть идентифицирован химически. Вместе с тем такая идентификация даже сейчас нелегка, главным образом из-за того, что трудно получить достаточное для анализа количество ауксина. Тем не менее в наши дни развитие и применение в данной области чув-

ствительных физико-химических методов, таких, как ультрафиолетовая и инфракрасная спектроскопия, а позднее масс-спектроскопия, сделали возможной химическую идентификацию ауксинов в растениях.

Эти работы в общем подтвердили, что ИУК является основным ауксином растений, хотя стало очевидным, что существуют и другие вещества с ауксиновой активностью. В большинстве своем они представляют собой индолы, очень близкие по строению к ИУК. Например, известно, что у целого ряда растений, в частности у представителей семейства крестоцветных, содержится 3-индолилацетонитрил (ИАН), а природным аук-



3-Индолилацетонитрил

сином гороха, очевидно, является 4-хлор-3-индолилуксусная кислота. В растениях также содержатся вещества неиндольной природы, такие, как фенилуксусная кислота, которые тем не менее обладают активностью, свойственной ауксину. Правда, химическое строение и биологическая роль большинства из этих неиндольных эндогенных ауксинов пока не выяснены. Поскольку ауксиновой активностью обладают несколько типов химических соединений, мы часто говорим во множественном числе — ауксины, а не ауксин.

3.2.2. Метаболизм индольных ауксинов

Исследования метаболизма эндогенных ауксинов по существу сводились к изучению образования и судьбы ИУК в растительных тканях. Это объясняется, во-первых, уверенностью, что ИУК является основным ауксином, и, кроме того, исследователями владело желание понять нормальные механизмы, регулирующие рост растений. Поскольку известно, что концентрация ауксина в тканях служит фактором, определяющим рост и дифференцировку, больше всего внимания уделялось процессам, регулирующим концентрацию ИУК. К числу таких процессов относятся следующие:

1. Синтез ИУК.
2. Разрушение ИУК.
3. Инактивация ИУК без разрушения ее молекулы.
4. Регуляция передвижения ИУК по тканям и органам (см. гл. 5).

Биосинтез ауксина. Когда выяснили, что ИУК представляет собой эндогенный ауксин, было высказано предположение,

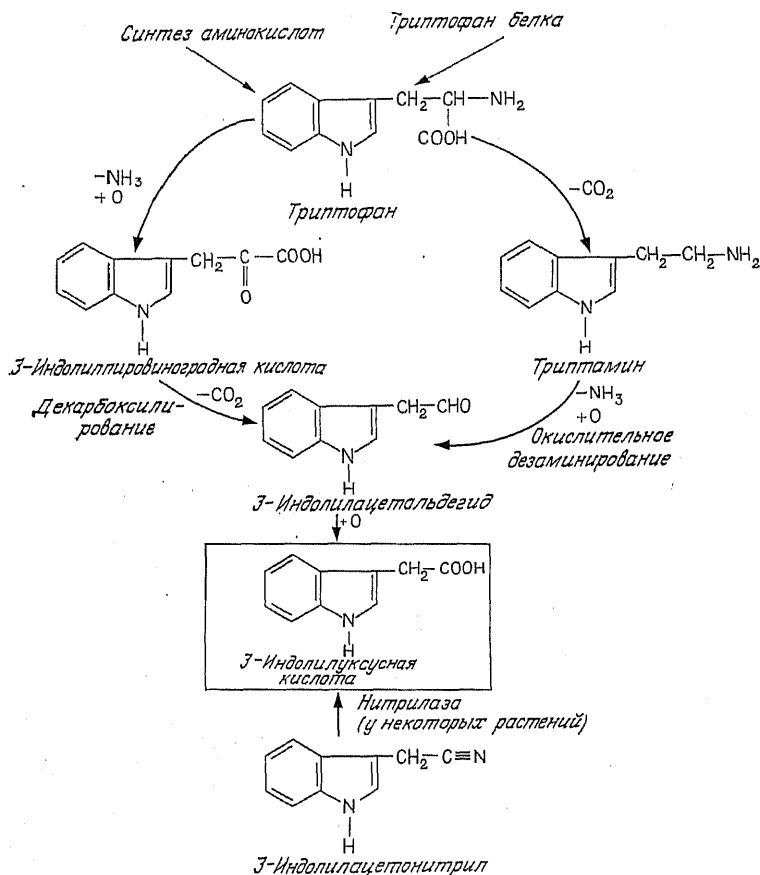


Рис. 3.2. Возможные пути биосинтеза 3-индолилпиксусной кислоты (ИПК) в растениях. (Биосинтез ИПК через триптамин обнаружен только у некоторых видов растений, таких, как овес, табак, томаты и ячмень.)

что она образуется из аминокислоты триптофана — индольного соединения, повсеместно распространенного в растительных тканях как в свободном состоянии, так и в составе белков. Действительно, неоднократно было продемонстрировано, что высшие растения или ферментные препараты из них способны превращать экзогенный триптофан в ИПК. Причем в нестерильных условиях как в целых растениях, так и в ферментных препаратах из добавленного триптофана образовывалось большое количество ИПК. В связи с этим в конце 60-х годов было высказано предположение, что *вся* ИПК, содержащаяся в растениях, синтезируется эпифитной микрофлорой. Однако позднее

было показано, что полностью стерильные ткани растений и ферментные препараты также способны превращать триптофан в ИУК. Поэтому сейчас считается общепризнанным, что ИУК в высших растениях синтезируется из триптофана через образование 3-индолилпировиноградной кислоты (ИПиК) и 3-индолилуксусного альдегида (ИУАльд) (рис. 3.2). По некоторым данным, в ряде видов растений, таких, как овес, табак, томаты и ячмень, ИУК может также синтезироваться из триптофана через триптамин и ИУАльд (рис. 3.2), однако другие растения, например горох, фасоль, капуста, тыква, не содержат триптамина. Третий путь биосинтеза ИУК, распространенный у крестоцветных, заключается в превращении триптамина в индолилацетальдоксим с последующим образованием ИАН либо прямым путем, либо через тиоглюкозид глюкобрассинин. ИУК возникает из ИАН под действием фермента нитрилазы. Пока не совсем ясно относительное значение каждого из этих альтернативных путей биосинтеза ИУК.

Помимо индольных соединений, упомянутых в схеме синтеза ИУК, представленной на рис. 3.2, в растениях встречается ряд других индолов. Возможно, что какой-либо один или все эти индолы могут служить предшественниками ИУК, но пока мы не располагаем достаточно убедительными данными относительно путей биосинтеза ИУК *in vivo*.

Разрушение ИУК. Твердо установлено, что в растительных тканях ИУК довольно легко инактивируется тем или иным способом. Следовательно, концентрация ИУК в растениях регулируется не только скоростью ее синтеза, но и инактивацией. Имеются данные, что катаболизм ИУК также осуществляется более чем одним способом.

Фотоокисление ИУК. Водные растворы ИУК на свету быстро разлагаются. Фотоокисление ИУК сильно ускоряется в присутствии многих природных и синтетических пигментов. В связи с этим возможно, что *in vivo* окисление ИУК происходит за счет энергии света, поглощаемого пигментами растения. Если это так, то наиболее вероятно, что роль таких пигментов играют рибофлавин и виолаксантин, поскольку они широко распространены в растениях, встречаются в достаточно больших количествах и поглощают свет в синей области спектра, который оказался наиболее активным в возбуждении фотоокисления ИУК.

Среди продуктов фотоокисления ИУК *in vitro* обнаружены 3-метилен-2-оксиндол и индолилальдегид, а также другие, неидентифицированные соединения, возникающие при расщеплении индольного кольца (рис. 3.3).

Химия фотоокисления ИУК в растениях совершенно не изучена, но индолилальдегид и метиленоксиндол встречаются во многих растениях и, быть может, представляют собой продук-

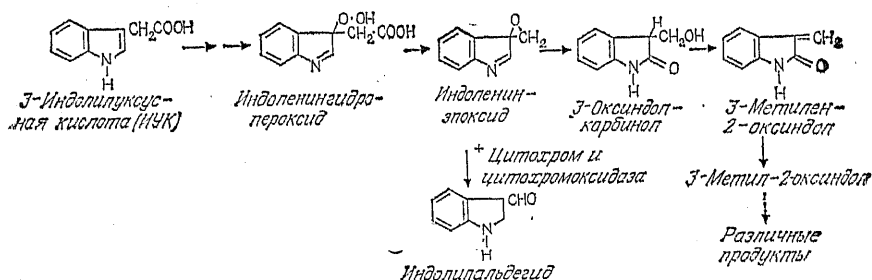


Рис. 3.3. Пути окисления ИУК.

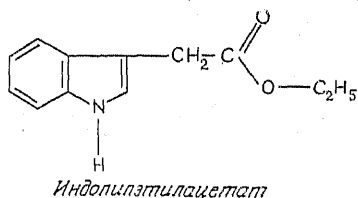
ты фотоокисления *in vivo*. Согласно некоторым данным, введенный экзогенный метиленоксиндол может регулировать рост растений, подавляя или ускоряя его. Однако другие более поздние работы свидетельствуют о том, что эндогенный метиленоксиндол вряд ли является регулятором роста *in vivo*.

Ферментативное окисление ИУК. Многие растения содержат фермент или ферментную систему, известную как *ИУК-оксидаза*, которая катализирует распад ИУК с высвобождением CO_2 и поглощением O_2 . Препараты ИУК-оксидазы из разных видов растений часто обладают разными свойствами, но все они имеют сходство с ферментом пероксидазой. Полного окисления ИУК с помощью одной только перекиси не происходит, для этого всегда необходимо присутствие помимо H_2O_2 кислорода. Добавление H_2O_2 к некоторым препаратам ИУК-оксидазы в одних случаях ускоряет разрушение ИУК, а в других — не оказывает никакого влияния. Это, по-видимому, обусловлено тем, что неочищенные ферментные препараты могут образовывать H_2O_2 , необходимую для действия пероксидазы. Кофактором ИУК-оксидазы у высших растений служит марганец. Монофенолы увеличивают активность фермента, а *орто*- и *пара*-диоксифенолы и полифенолы снижают ее.

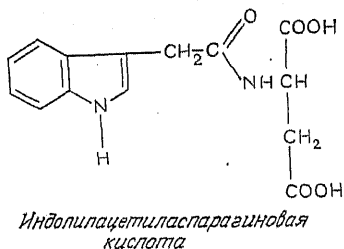
Механизм разрушения индолилпируватной кислоты ИУК-оксидазой (рис. 3.3) недостаточно изучен. Основным продуктом, получаемым *in vitro*, является 3-метилен-2-оксиндол, который далее, возможно, превращается в 3-метил-2-оксиндол. Препараты ИУК-оксидазы, содержащие также цитохромоксидазу, превращают ИУК главным образом в 3-индолилальдегид, и это вещество стабильнее оксиндолов. Физиологическое значение этих наблюдений пока совершенно не ясно. Не много известно также о взаимодействии между ИУК-оксидазой и природными фенолами, быть может, потому, что многие работы проводятся с плохо очищенными ферментными препаратами. Тем не менее очень вероятно, что природные фенолы играют роль модификаторов или регуляторов работы ИУК-оксидазы в растениях.

Имеется ряд данных, свидетельствующих о том, что ферментативное окисление ИУК определяет уровень ауксинов в растительных тканях, и это поддерживает интерес к изучению данного процесса. Так, появились сообщения, что 1) активность ИУК-оксидазы возрастает при старении тканей; 2) существует отрицательная корреляция между скоростью роста и содержанием ИУК-оксидазы в различных органах и 3) активность ИУК-оксидазы в корнях, содержащих крайне мало ИУК, очень высока. Все же пока нельзя сделать окончательный вывод о том, что такие корреляции имеют физиологическое значение.

Другие механизмы инактивации ИУК. Инактивация ИУК в растительных тканях может происходить не только путем ее фотоокисления или ферментативного разрушения, но и путем образования разного рода инертных комплексов. Так, ИУК под воздействием растительных ферментов легко образует этиловый эфир (индолилэтилацетат)



Кроме того, неоднократно появлялись сообщения о ферментативном конъюгировании ИУК с образованием, например, индолилацетиласпартата.



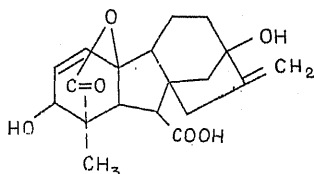
Природа этерификации или ферментативного образования конъюгатов ИУК пока мало изучена.

ИУК может также конъюгировать с различными сахарами и соответствующими многоатомными спиртами. В результате образуются такие соединения, как индолилацетиларабиноза, индолилацетилглюкоза и ИУК-миоинозит. Существуют также конъюгаты ИУК и белков.

3.3. ГИББЕРЕЛЛИНЫ

3.3.1. Выделение и химические свойства гиббереллинов

Группа фитогормонов, известных теперь как гиббереллины, была открыта в 20-е годы, когда японский исследователь Куросава изучал «баканаэ» («дурные побеги») — болезнь риса, вызываемую грибом *Gibberella fujikuroi* (известным также под названием *Fusarium moniliforme*). Типичным симптомом заражения этим грибом является чрезмерное вытягивание стеблей и листьев риса, в результате чего получаются аномально высокие растения, которые обычно полегают из-за тонкости стебля — отсюда и название «дурные побеги». Куросава с сотрудниками обнаружили, что если вырастить гриб в культуральной среде, которую затем профильтровать, то этот совершенно не содержащий гриба фильтрат при обработке им растений риса вызывает те же симптомы аномального роста. Стало очевидным, что *Gibberella fujikuroi* выделяет в зараженное растение или, при выращивании в культуре, в питательную среду какое-то вещество, стимулирующее вытягивание стебля и листьев. В 1939 г. из таких фильтратов культуральной среды было выделено небольшое количество высокоактивного кристаллического материала, получившего название «гиббереллин А». Химический состав и строение этого материала не были достаточно хорошо изучены японскими исследователями. Дальнейший прогресс в этой области не наблюдался вплоть до 1954 г., когда английские химики выделили из фильтрата культуральной жидкости *Gibberella fujikuroi* чистое вещество и химически охарактеризовали его. Они назвали новое вещество *гибберелловой кислотой* и выяснили его строение:



Обработка гибберелловой кислотой интактных растений многих видов вызывала аномальное вытягивание стеблей и листьев, но самый удивительный эффект был получен при обработке гибберелловой кислотой так называемых «генетических карликов» у разных видов растений. Обработанные гибберелловой кислотой карликовые растения приобретали вид нормальных высоких растений, из которых когда-то путем мутаций возникли эти карлики (рис. 3.4).

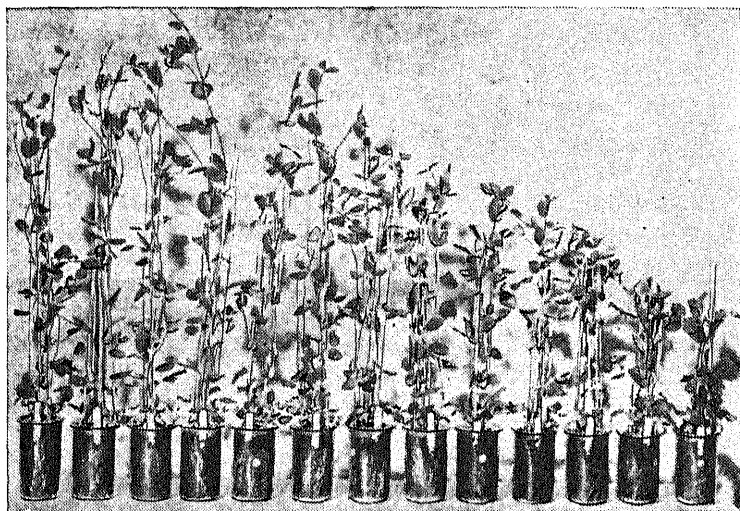
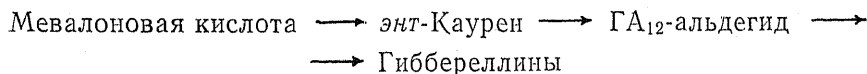


Рис. 3.4. Влияние гибберелловой кислоты (GA_3) на рост побегов карликового гороха (*Pisum sativum*, сорт Meteor). Крайнее справа растение не обработано GA_3 , а остальные растения справа налево обрабатывали возрастающими концентрациями GA_3 . (С фотографии, предоставленной профессором П. В. Брайеном.)

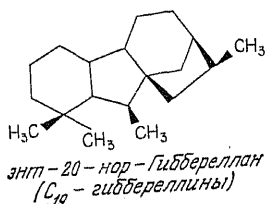
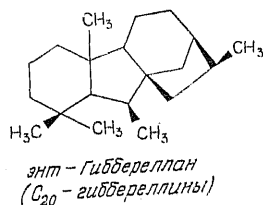
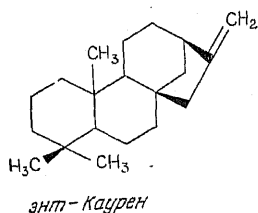
Может показаться странным, что вещество, полученное из гриба, вызывает по существу нормальные ответные реакции у высших растений. Однако теперь известно, что гибберелловая кислота и родственные ей по химическому строению и биологической активности вещества встречаются в здоровых (т. е. незараженных) растениях всех видов. Из высших растений был выделен целый ряд таких веществ, так что к настоящему моменту известно 58 химически охарактеризованных соединений, оказывающих действие, близкое к действию гибберелловой кислоты. Все эти вещества называют гиббереллинами и обозначают A_1 — A_{58} (или GA_1 — GA_{58}). Гибберелловая кислота — это GA_3 . Некоторые известные гиббереллины выделены из культуральной жидкости *Gibberella fujikuroi*, а другие — из различных органов высших растений. Все эти вещества очень близки по структуре к гибберелловой кислоте и отличаются друг от друга главным образом по числу, типу и положению замещений (в частности, гидроксильных групп) в системе колец и по степени насыщенности «А»-кольца (см. рис. 4.5). Вполне вероятно, что список известных гиббереллинов еще будет пополняться.

Пути биосинтеза гиббереллинов в растениях показаны на рис. 3.5. Однако основную последовательность событий можно

представить следующим образом:



Гиббереллины представляют собой дитерпеноидные кислоты, образующиеся из содержащего четыре кольца дитерпеноидного углеводорода *энт*-каурена. Немногим менее половины известных гиббереллинов сохраняют все 20 атомов углерода этого предшественника. Гиббереллины, содержащие 20 атомов углерода, называют С₂₀-гиббереллинами, и они являются производными *энт*-гиббереллана (углеродный скелет которого показан ниже). Другие (С₁₉) гиббереллины в процессе биосинтеза теряют 20-й атом углерода (нумерацию атомов углерода у гиббереллинов см. на с. 124), и в их основе лежит *энт*-20-*нор*-гиббереллановый скелет:



Некоторые природные соединения не содержат гиббереллановой системы колец, но тем не менее по своей биологической активности сходны с гиббереллинами. Среди них можно назвать гиббереллетин (серусодержащее производное ГА₃) из незрелых семян *Pharbitis nil*; антеридиоген (структурно перестроенный ГА₄), вызывающий образование антеридиев у папоротника *Anemia phyllitidis*; гельминтоспораль, выделенный из гриба *Helminthosporium sativum*, и фазеолевую (кето-карбоновую) кислоту, полученную из семян фасоли.

Тот факт, что гиббереллины, или по крайней мере часть из них, оказались природными гормонами роста высших растений, заставил нас в корне пересмотреть представления о гормональ-

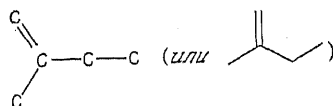
ной регуляции роста и дифференцировки у растений. Теперь уже необходимо было принимать во внимание, что не только один гормон, а именно ауксин, влияет на развитие клеток и тканей, но что гиббереллины, а позже выяснилось, что и другие гормоны (например, цитокинины) также участвуют в регуляции тех же процессов, что и ауксины. Действительно, как мы увидим позже, ауксины, гиббереллины и цитокинины *взаимодействуют* друг с другом при регуляции роста и дифференцировки у растений. Весьма вероятно, что абсцизовая кислота и этилен также взаимодействуют с другими фитогормонами.

3.3.2. Метаболизм гиббереллинов

Гиббереллины представляют собой дитерпены, которые относятся к обширной группе природных соединений, распространенных в растениях и называемых терпеноидами. Биохимия терпеноидов достаточно хорошо изучена, и поэтому основные черты биосинтеза гиббереллинов удалось выяснить сравнительно быстро.

Метаболизм гиббереллина исследован гораздо обстоятельнее у гриба *Gibberella fujikuroi*, чем у высших растений. В соответствии с этим пути биосинтеза гиббереллина у гриба также изучены лучше, чем у высших растений. У *G. fujikuroi* гиббереллины являются продуктами вторичного обмена, поскольку данных о гормональном действии гиббереллинов у самого гриба нет. Гриб никоим образом не синтезирует всех гиббереллинов, встречающихся в высших растениях. Использование в последние годы соответствующих бесклеточных препаратов из семян высших растений (таких, как *Marah macrocarpus*, или *Echinocystis macrocarpus*, и *Cucurbita maxima*) ускорило исследование метаболизма гиббереллинов в растениях.

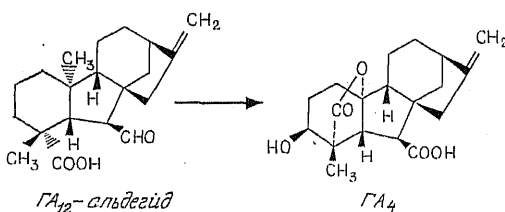
Биосинтез гиббереллинов. Основным структурным звеном терпеноидов является изопрен, состоящий из 5 атомов углерода (C_5). Два таких звена составляют монотерпен (C_{10}), три — сесквитерпен (C_{15}), четыре — дитерпен (C_{20}) и шесть — тритерпен (C_{30}).



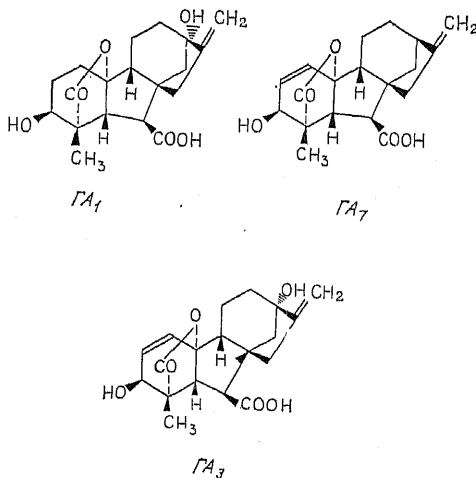
Изопреновое звено C_5

Ясно, что при таком большом разнообразии гиббереллинов не существует единого пути их биосинтеза в грибах и высших растениях. Пути образования различных гиббереллинов еще не полностью выяснены, но у *G. fujikuroi* они изучены лучше,

чем у высших растений. Стадии до образования ГА₁₂-альдегида (первый промежуточный продукт с *энт*-гиббереллановым скелетом) одинаковы у гриба и у всех высших растений, но затем биосинтез может идти по пути «раннего 3β-гидроксилирования» и «без 3β-гидроксилирования» (рис. 3.5). Первый путь начинается с 3β-гидроксилирования ГА₁₂-альдегида, в результате чего образуется ГА₄. При этом происходят 1) окисление 7β-альдегидной группы в 7β-карбоксильную группу и 2) потеря 10α-метильной группы с образованием лактонового кольца между C₁₉ и C₁₀.

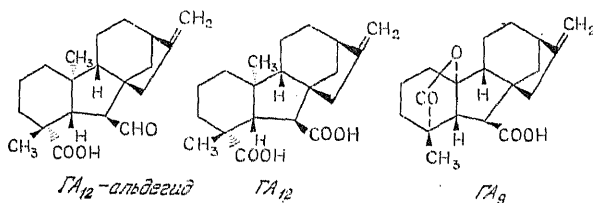


После образования ГА₄ возможно несколько альтернативных путей. Три из них состоят в гидроксилировании с образованием в качестве основных продуктов соответственно ГА₁₆, ГА₄₇ и ГА₁. В четвертом случае происходит образование Δ¹-двойной связи и возникает ГА₇. При его гидроксилировании в положении 13 образуется ГА₃.



Без 3β-гидроксилирования в качестве основных продуктов образуются ГА₁₂ и ГА₉. Первая стадия заключается в окислении

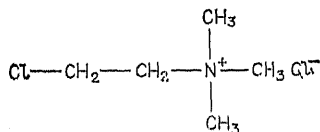
7 α -альдегидной группы ГА₁₂-альдегида до карбоксильной группы с образованием ГА₁₂. Из ГА₁₂ путем удаления 10 α -метильной группы и формирования лактонового кольца между С₁₉ и С₁₀ образуется ГА₉.



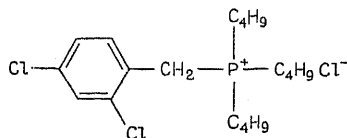
В настоящее время получены данные, что гиббереллины содержатся в *пластидах*, где могут проходить по крайней мере некоторые, а быть может, и все стадии их биосинтеза. Кроме того, результаты отдельных исследований свидетельствуют о том, что синтез гиббереллинов в пластидах и их выделение из пластид каким-то образом регулируются фитохромом. Этиопласты способны поглощать мевалоновую кислоту из цитоплазмы и превращать ее в гиббереллины. При освещении растений этиопласты превращаются в хлоропласты, и тогда оболочка хлоропластов становится непроницаемой для мевалоновой кислоты. Следовательно, хлоропласты синтезируют свою собственную мевалоновую кислоту, часть которой используется для синтеза гиббереллинов. Могут ли и другие клеточные органеллы наряду с пластидами синтезировать гиббереллины, остается пока неясным.

Интересно отметить, что такой ингибитор роста, как абсцизовая кислота (АБК), является сесквитерпеноидом, и поэтому АБК и гиббереллины имеют общие этапы биосинтеза из мевалоновой кислоты, а кроме того, АБК также синтезируется в этиопластах и хлоропластах.

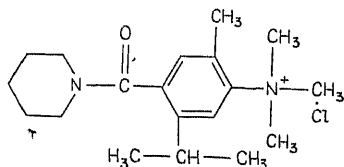
В последние годы получен ряд синтетических *ингибиторов роста* (ретардантов). Примеры их приведены ниже:



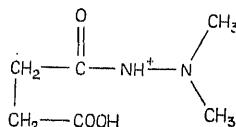
Хлористый (2-хлорэтил)-триметиламмоний
(ССС; Сайкосел; Хлормекват)



Хлористый трибутил-
2,4-дихлорбензилфосфоний
(фосфон D)



Хлористый 2-изопропил-
4-триметиламино-5-метил-
фениловый эфир пиперидинкар-
боновой кислоты (АМО-1618)



2,2-Диметилгидразид янтар-
ной кислоты
(SADH; В-395; 3-9; алар)

Некоторые из этих ретардантов очень важны в сельском хозяйстве (см. с. 225). Было показано, что отдельные ретарданты подавляют синтез гиббереллинов в обработанных ими растениях. Например, ретардант АМО-1618 подавляет синтез гиббереллинов в гомогенатах из эндосперма дикого огурца (*Echinocystis macrocarpa*). По-видимому, АМО-1618 препятствует образованию циклического соединения энт-каурена из геранилгеранилпирофосфата (рис. 3.5). Ретардант сайкосел, или ССС, очевидно, действует сходным образом.

Инактивация гиббереллинов. О судьбе гиббереллинов в растительных тканях известно очень немного. По некоторым данным, активность гиббереллинов довольно долго сохраняется в растениях в отличие от экзогенно вводимых ауксинов (таких, как ИУК), которые быстро инактивируются. Однако хорошо известно, что даже большие дозы гиббереллинов не приносят заметного вреда, тогда как высокие концентрации ауксинов повреждают растения, возможно, вследствие их влияния на синтез этилена (с. 182). Поэтому для растения, по-видимому, более важно обладать способностью к быстрой инактивации ауксина, когда его концентрация превышает определенный уровень.

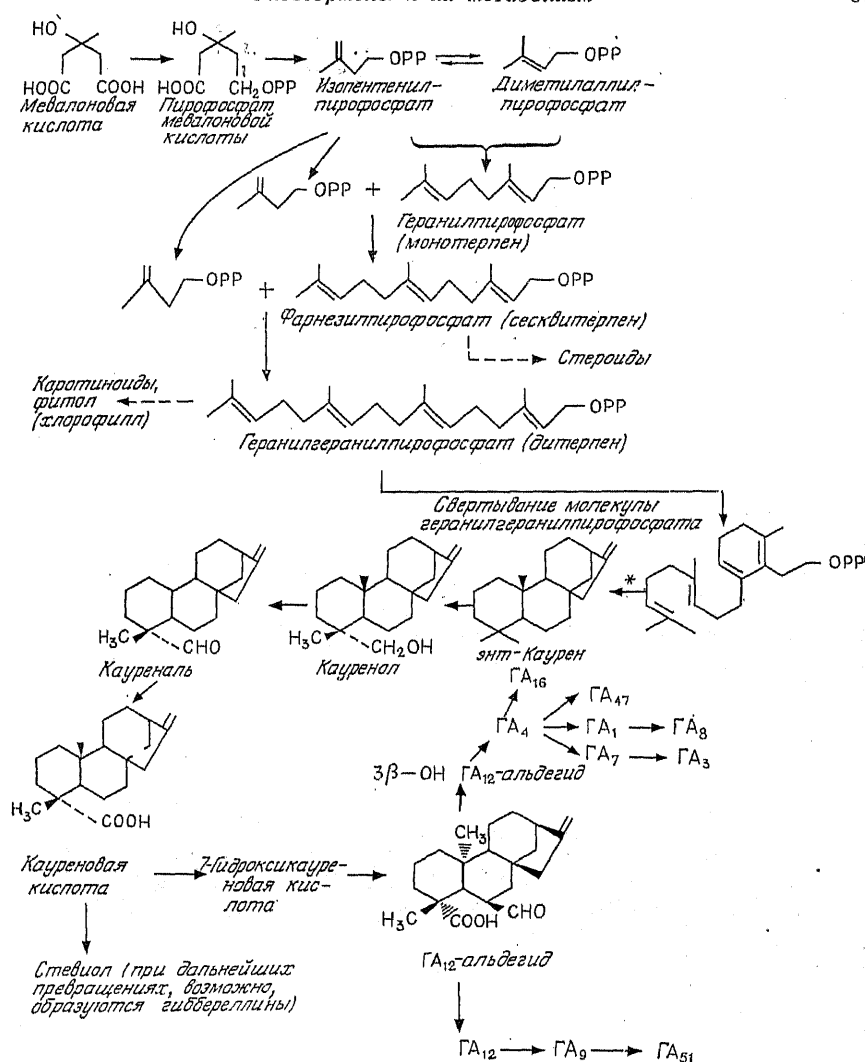
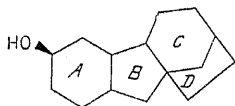


Рис. 3.5. Возможные пути биосинтеза из мевалоновой кислоты некоторых известных гиббереллинов. Синтез остальных гиббереллинов (их известно около шестидесяти) происходит путем различных преобразований и взаимопревращений, не все стадии которых еще изучены. Образование системы колец из геранилгеранилпиррофосфата (отмечен звездочкой) подавляют такие ретарданты, как CCC, фосфон D и AMO-1618.

Однако сейчас нет сомнений, что растения в значительной мере метаболизируют гиббереллины. Их инактивация происходит либо путем модификации углеродного скелета (которая по крайней мере исходно сводится к специфическим замещениям), либо путем образования конъюгатов с глюкозой. Очень часто

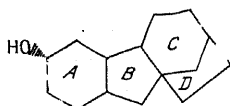
гиббереллины в высших растениях инактивируются при 2 β -гидроксилировании их молекулы (т. е. присоединении группы —ОН в β -конфигурации ко второму атому углерода А-кольца):



2 β -Гидроксилированный
гиббереллин

Такое 2 β -гидроксилирование широко распространено в высших растениях. Оно, по-видимому, необратимо и приводит к полной утрате или сильному уменьшению биологической активности гиббереллина. В качестве примеров 2 β -гидроксилирования гиббереллинов в растениях можно привести следующие превращения: $GA_1 \rightarrow GA_8$, $GA_{30} \rightarrow GA_{29}$ или $GA_9 \rightarrow GA_{51}$. Во всех этих случаях продукт превращения неактивен или обладает очень низкой гиббереллиновой активностью.

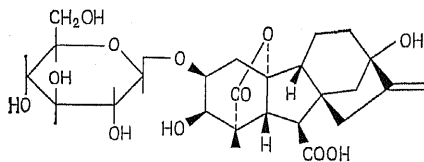
Интересно, что гриб *G. fujikuroi* может осуществлять 2 α -гидроксилирование, но не 2 β -гидроксилирование гиббереллинов:



2 α -Гидроксилированный
гиббереллин

Примерами 2 α -гидроксилирования, осуществляемого этим грибом, могут служить реакции $GA_9 \rightarrow GA_{40}$ или $GA_4 \rightarrow GA_{47}$. Как GA_{40} , так и GA_{47} являются активными гиббереллинами.

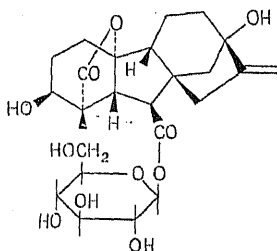
Конъюгация гиббереллинов с глюкозой происходит либо путем замещения гидроксильной группы (с образованием простых эфиров гиббереллина и глюкозы), например:



Эфир GA_8 и глюкозы (GA_8 -глюкозид)

либо путем образования сложноэфирной связи между сахаром

и карбоксильной группой в положении 7 гиббереллина, например:



Эфир ГА₁ и глюкозы

Самые высокие концентрации конъюгатов были обнаружены в зрелых семенах. Поэтому было высказано предположение, что эти конъюгаты, быть может, представляют собой одну из форм «запасания» гиббереллинов, которые при прорастании семени высвобождаются в процессе гидролиза. Однако пока такое предположение не получило достаточных экспериментальных обоснований. Одним из аргументов, свидетельствующих против этого, является то, что ряд неактивных 2β-гидроксилированных гиббереллинов (например, ГА₈, ГА₂₆, ГА₂₇ и ГА₂₉) содержится в семенах также в виде простых эфиров с глюкозой. А поскольку, как мы уже говорили, 2β-гидроксилирование, вероятно, необратимо, при гидролизе этих конъюгатов не образуются активные гиббереллины. Кроме того, до сих пор в растениях не обнаружены ферменты, которые могли бы гидролизовать простые эфиры глюкозы и гиббереллинов. Тем не менее сложные эфиры глюкозы и активных гиббереллинов при прорастании подвергаются ферментативному гидролизу с высвобождением активных свободных гиббереллинов. Таким образом, эти конъюгаты обладают необходимыми свойствами, чтобы служить запасными формами гиббереллинов в семенах.

Гибберелловая кислота в растворе подвергается кислотному гидролизу, особенно активному при высоких температурах. В результате образуются такие соединения, как гибберелленовая, аллогибберовая и гибберовая кислоты. Гибберовая кислота полностью теряет гормональную активность, а гибберелленовая и аллогибберовая кислоты еще могут оказывать физиологическое действие, подобное действию гиббереллинов.

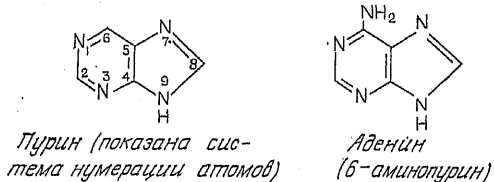
3.4. ЦИТОКИНИНЫ

Открытие этой группы гормонов было связано с работами по культивированию *in vitro* молодых зародышей и тканевых эксплантатов растений. Габерландт в работах, проведенных в пер-

вые два десятилетия нашего века, показал, что в тканях растений содержится какой-то способный к диффузии фактор, под влиянием которого клетки паренхимы клубней картофеля возвращаются в меристематическое состояние, иными словами, этот фактор способен индуцировать клеточные деления.

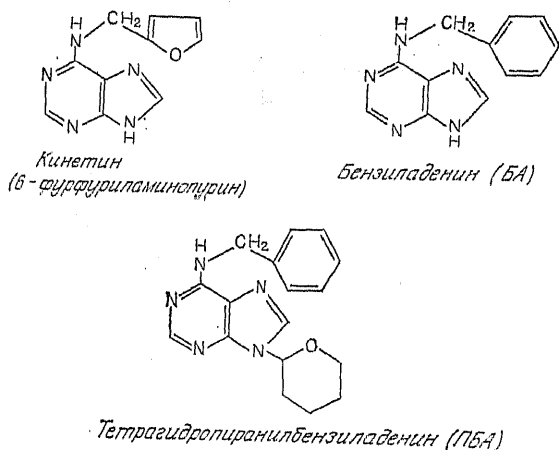
Многими исследователями, в частности Скугом и Стюардом в США, были проведены сходные работы при изучении факторов, необходимых для роста культуры каллуса (масса недифференцированных и очень быстро делящихся клеток, с. 235) из сердцевинной паренхимы табака и из корней моркови. Основным результатом этих работ, проведенных в 50-е годы, явилось осознание того факта, что в растениях содержатся цитокинины — гормоны, которые сначала считали особенно важными в процессах деления и дифференцировки клеток, а позднее признали их значительную роль также в регуляции разнообразных физиологических процессов, таких, как старение и апикальное доминирование.

Скуг использовал следующую методику культуры тканей. Он помещал изолированные кусочки сердцевинки табака на поверхность агарового геля, содержащего различные питательные вещества и другие, гормональные, факторы. Варьируя состав агаровой среды, Скуг наблюдал за изменениями в росте и дифференцировке клеток сердцевинки. Было обнаружено, что для активного роста клеток необходимо добавлять в агар не только питательные, но и гормональные вещества, такие, как ауксин. Однако если к питательной среде добавляли только один ауксин (ИУК), то кусочки сердцевинки росли очень слабо, и этот рост в основном определялся увеличением размеров клеток. Клеточные деления были очень немногочисленны, а дифференцировки клеток не наблюдалось. Если же вместе с ИУК в агаровую среду вносили пуриновое основание *аденин*, то клетки паренхимы начинали делиться, образуя каллусную массу. Аденин, добавленный без ауксина, не вызывал клеточных делений в сердцевинной ткани. Следовательно, для индукции клеточного деления необходимо *взаимодействие* между аденином и ауксином. Аденин — это производное пурина (6-аминопурин), входящее в состав природных нуклеиновых кислот.



Позже из разрушенной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) было выделено другое вещество, обладавшее таким же,

как аденин, но более мощным действием. Это вещество оказалось 6-фурфуриламинопуринном, т. е. по структуре было очень близко к аденину. Поскольку это вещество (в комбинации с ауксином) активно стимулировало клеточное деление, его назвали *кинетином*. Было обнаружено, что взаимодействие 3-индолилуксусной кислоты и кинетина определяет их влияние на клеточное деление и дифференцировку в культуре клеток из сердцевины табака (рис. 6.2) подобно тому, как это было показано для ИУК и аденина.



Кинетин представляет собой синтетический цитокинин и не встречается в растениях. Впоследствии были получены другие синтетические цитокинины, наиболее активные из которых бензиладенин (БА) и тетрагидропиранилбензиладенин (ПБА) (см. выше).

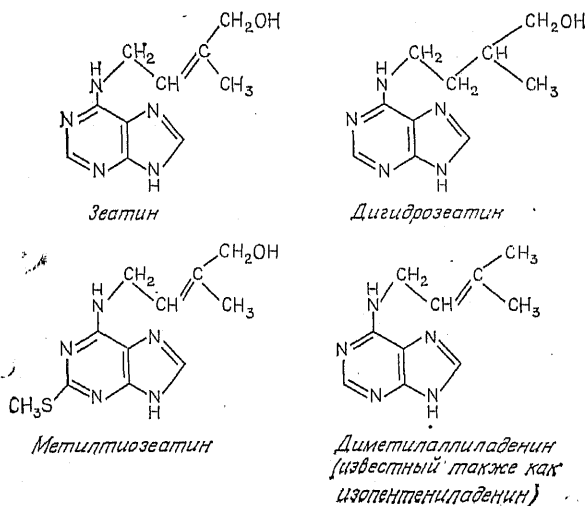
3.4.1. Эндогенные цитокинины

Мы не располагаем данными о том, что в растениях в норме содержатся кинетин, БА или ПБА, однако в различных органах высших растений были обнаружены вещества, оказывающие такое же физиологическое и морфологическое действие. В частности, такие вещества были обнаружены в «питающих тканях», например в кокосовом молоке (жидком эндосперме), в незрелых зерновках *Zea mays* и в незрелых плодах конского каштана (*Aesculus hippocastanum*), банана и яблони. Эти природные вещества наряду с некоторыми синтетическими соединениями, влияющими на рост подобно кинетину, получили общее название — *цитокинины*. Итак, цитокинины — это вещество, ко-

торое в сочетании и во взаимодействии с ауксином стимулирует деление клеток растений и определяет направление, в котором пойдет их дифференцировка.

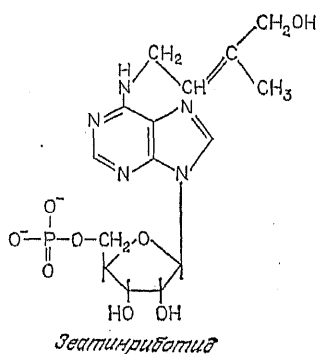
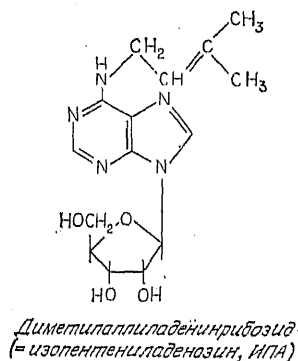
Накопленные в литературе данные позволяют предполагать, что природные цитокинины являются производными пурина, а именно аденина. В 1964 г. новозеландец Летам выделил цитокинин из зерен сахарной кукурузы, идентифицировал его как 6-(4-гидрокси-3-метил-2-бутенил)аминопурин и дал ему тривиальное название *зеатин*.

За время, прошедшее после выделения зеатина и выяснения его природы, в различных растительных объектах был идентифицирован достаточно широкий набор природных цитокининов. Все известные природные цитокинины представляют собой производные аденина (т. е. 6-замещенные аминокпурины). Формулы некоторых из них приведены ниже. Зеатин — наиболее активный из известных сейчас природных цитокининов. Интересно, что цитокинин (*о*-гидроксibenзил)аденозин, выделенный из листьев тополя, почти идентичен синтетическому цитокинину, бензиладенину, и отличается от него только одной дополнительной гидроксильной группой.



Как и другие пурины, природные цитокинины легко образуют рибозиды (пуриновое основание + сахар рибоза) и риботиды (основание + рибоза + фосфатная группа), а также могут включаться в состав рибонуклеиновых кислот. К этой проблеме мы еще вернемся. Ниже приведены примеры природных

рибозидов и риботидов цитокининов:



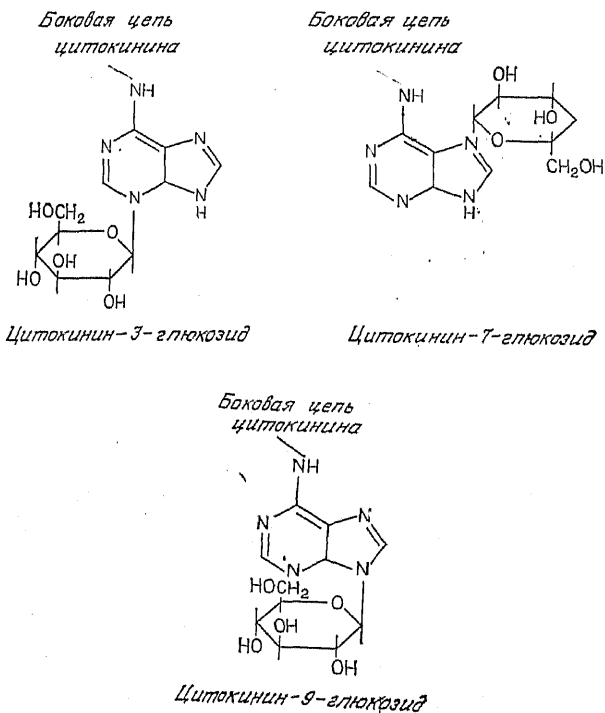
3.4.2. Метаболизм цитокининов

Биосинтез цитокининов. Свободные цитокинины могут синтезироваться в растительных тканях одним или двумя из указанных ниже способов. Первый способ заключается в присоединении характерной для цитокинина боковой цепи к 6-му атому углерода аденина, рибозида аденина или риботида аденина. Аденин, его нуклеозид и нуклеотид, безусловно, широко распространены в клетках растений. Боковая цепь почти всех природных цитокининов содержит пять атомов углерода, из чего следует, что она образуется в процессе биосинтеза изопреноидов. Второй способ заключается в гидролизе тРНК, содержащих цитокинины (например, в некоторых тРНК имеется аденин, к 6-му атому углерода которого присоединен изопентенил).

Хотя потенциально тРНК могут служить источником свободных цитокининов, однако существует немало данных о том, что на самом деле они не выполняют такой функции у большинства растений. Например, в некоторых выращиваемых в стерильных условиях растительных тканях, рост которых зависит от наличия в среде цитокининов, тем не менее присутствуют цитокининсодержащие тРНК, следовательно, эти тРНК не могут играть роль предшественников необходимого свободного цитокинина. Было также показано, что количество свободных цитокининов в кончиках корней гороха в 27 раз превышает его содержание в тРНК. Кроме того, если бы свободные цитокинины возникали только путем гидролиза тРНК, то можно было бы ожидать, что в клетках присутствовали бы различные типы свободных цитокининов, а этого обнаружено не было.

Итак, большинство исследователей считают, что свободные цитокинины синтезируются в растениях посредством механизма, независимого от деградации тРНК. Наиболее вероятным пред-

происходить по 3-, 7- или 9-му положению пуринового кольца:



7- и 9-глюкозиды цитокининов гораздо менее активны, чем соответствующие свободные цитокинины, из которых они образовались. Однако 3-глюкозиды сохраняют цитокининовую активность почти полностью. 7-Глюкозиды, по-видимому, особенно стабильны в растительных тканях. Было высказано предположение, что эти глюकोзиды представляют собой запасную форму цитокининов, однако для выяснения физиологической роли конъюгатов цитокининов с глюкозой необходимы еще серьезные исследования. В случае зеатина и дигидрозеатина было обнаружено, что эти природные цитокинины и их метаболиты могут соединяться с глюкозой через —ОН-группу боковой цепи. Эти конъюгаты полностью сохраняют цитокининовую активность, возможно, в связи с непрочностью глюкозидной связи. В растениях обнаружены также 9-аланилпроизводные зеатина и бензил-аденина, не обладающие биологической активностью.

Было обнаружено, что метаболическое разрушение цитокининов в растениях включает ферментную систему, которая окисляет двойные связи боковой цепи с образованием в конечном счете аденина. Эта так называемая цитокинин-оксидаза, воз-

можно, играет важную роль в регуляции уровня цитокининов в растительных тканях, поскольку она инактивирует эти соеди-

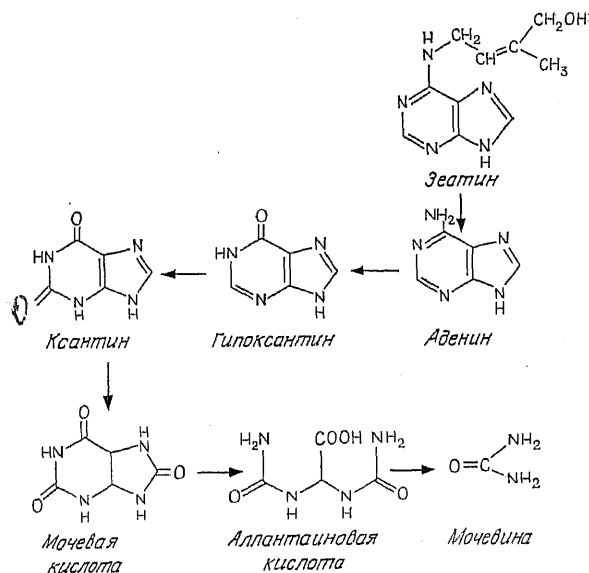
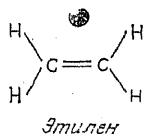


Рис. 3.7. Катаболизм природного цитокинина зеатина. (D. Schlee, H. Reinbothe, K. Mothes, Z. Pflanzenphysiol., 54, 223—236, 1966.)

нения. Адениновая часть молекулы может затем подвергнуться последовательным этапам окисления с образованием мочевины через ряд промежуточных продуктов (рис. 3.7).

3.5. ЭТИЛЕН

Этилен как гормон кажется несколько необычным веществом. Он представляет собой очень простое органическое соединение в отличие от химически более сложных гиббереллинов, ауксинов, цитокининов и абсцизовой кислоты. Кроме того,



при обычных температурах этилен находится в газообразном состоянии. Таким образом, если считать этилен гормоном, то это газообразный гормон. Возможно, и такая точка зрения действительно высказывалась, что теоретически растению выгодно

иметь газообразный, способный к диффузии регулятор роста в дополнение к другим гормонам, которые должны передвигаться к месту своего действия через живые клетки. Обработка растений очень низкими концентрациями газообразного этилена оказывает сильное и разнообразное влияние на их физиологические и метаболические реакции. Однако накапливаются данные, что эндогенный этилен, т. е. этилен, синтезируемый самим растением, также участвует в регуляции роста, дифференцировки и ответных реакций на изменения внешней среды.

Уже многие годы известно, что развивающиеся плоды выделяют этилен и что время максимального образования этилена в развивающихся плодах совпадает с временем *климактерического подъема* их дыхания (этим термином обозначают сильное увеличение интенсивности дыхания, наблюдающееся в период созревания многих плодов, перед снижением интенсивности дыхания, связанным со старением). Было обнаружено, что у плодов, подвергавшихся действию этилена, такой подъем дыхания наступает раньше и проявляется сильнее, и плоды быстрее созревают. Этилен так эффективно стимулирует дыхание, что климактерический подъем в его присутствии обнаруживается даже у таких плодов, как апельсины и лимоны, у которых обычно он не проявляется. Ускорение созревания плодов под воздействием этилена оказалось практически важным при разведении цитрусовых.

В последние годы, однако, становится очевидным, что физиологическая роль этилена гораздо шире, чем его влияние только на созревание плодов. По-видимому, многие эффекты, которые раньше считались результатом прямого действия ауксина, осуществляются через промежуточное звено, которое состоит в стимуляции ауксином образования этилена, вызывающего в свою очередь ответную реакцию растения.

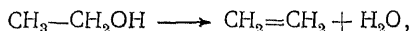
В тех случаях, когда этилен, образование которого индуцировано ауксином, ответствен за наблюдаемые эффекты, его можно рассматривать как гормон-посредник, подобно циклическому АМФ, служащему посредником в действии многих гормонов животных. Однако не все эффекты ауксина опосредованы образованием этилена, точно так же как не все эффекты этилена выявляются при действии ауксина. Например, этилен не может заменить ауксины в следующих случаях: 1) при стимуляции роста клеток растяжением у огромного большинства растений; 2) при стимуляции роста культуры тканей и 3) при задержке старения, созревания и опадения. И наоборот, ауксин обычно не может заменить этилен в стимуляции таких процессов, как прорастание семян, старение листьев и опадение.

Содержание этилена можно точно и относительно просто определить чувствительным методом газожидкостной хроматографии. С его помощью установили, что скорость биосинтеза

этилена в разных органах растений и на разных стадиях развития различна. У вегетативных растений самая высокая скорость образования этилена наблюдается в наиболее активно растущих зонах стебля и листьев, а именно в меристемах. Например, в апикальной меристеме стебля гороха скорость синтеза этилена составляла 0,43 мкл/ч на 1 кг сырого веса; тогда как в более старых междоузлиях образовывалось всего 0,04 мкл/ч на 1 кг сырого веса. В общем можно сказать, что больше всего этилена синтезируют те части растения, в которых содержится большое количество эндогенного ауксина, хотя стареющие ткани, как правило, содержат мало ауксина, но образуют сравнительно много этилена (гл. 5 и 12). Особенно высокие скорости синтеза этилена зарегистрированы у созревающих плодов некоторых видов растений: например, плоды страстоцвета могут образовывать до 500 мкл этилена в час на 1 кг.

3.5.1. Метаболизм этилена

Биосинтез этилена. У грибов синтез этилена происходит главным образом путем дегидратации этилового спирта:



однако этот путь вряд ли используется высшими растениями. Было высказано несколько предположений относительно предшественника этилена в высших растениях, но исследования последнего десятилетия в большинстве своем свидетельствуют, что основным и, возможно, единственным предшественником этилена в высших растениях является аминокислота метионин. Биохимический путь превращения метионина в растениях изображен на рис. 3.8. Первая реакция заключается в активации метионина с помощью АТФ с образованием S-аденозилметионина (SAM). Ее катализирует фермент метионин-аденозилтрансфераза. Ауксин не влияет на превращение метионина в SAM. Вторая реакция — это превращение SAM в 1-аминоциклопропан-1-карбоновую кислоту (АЦК), осуществляемое ферментом АЦК-синтетазой. По-видимому, именно превращение SAM в АЦК лимитирует образование этилена в растениях, и именно посредством воздействия на это звено ауксин стимулирует биосинтез этилена (см. с. 182 и рис. 5.13). Так, ауксин стимулирует синтез или вызывает активацию АЦК-синтетазы, следствием чего является усиленное накопление АЦК, непосредственного предшественника этилена. Превращение АЦК в этилен также осуществляется ферментом, но эта реакция, очевидно, нечувствительна к ауксину.

Исследования по синтезу этилена в стареющих лепестках *Iris tricolor* (см. гл. 12) позволили предположить, что ско-

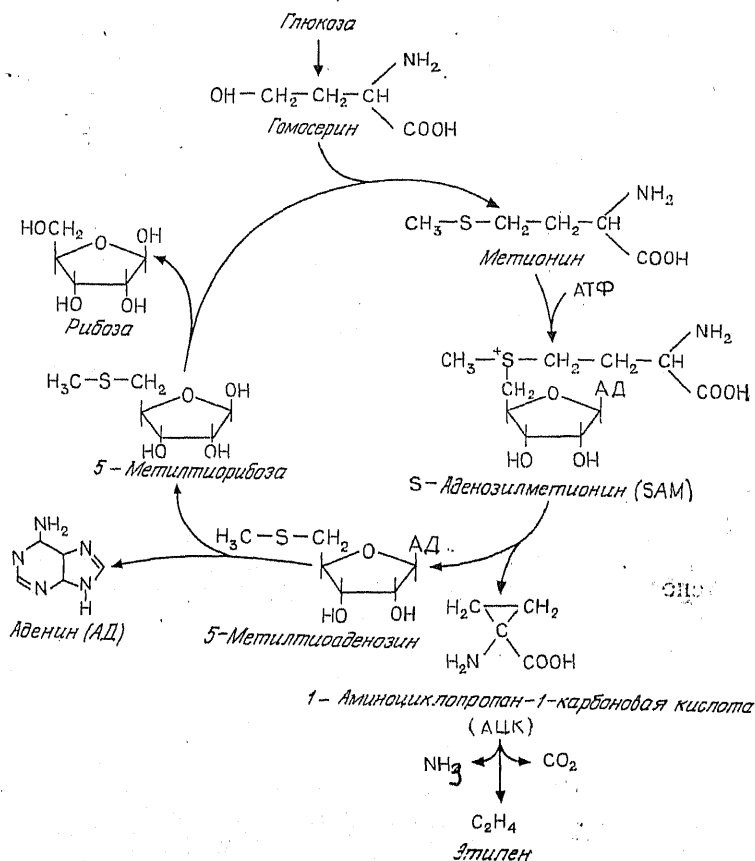
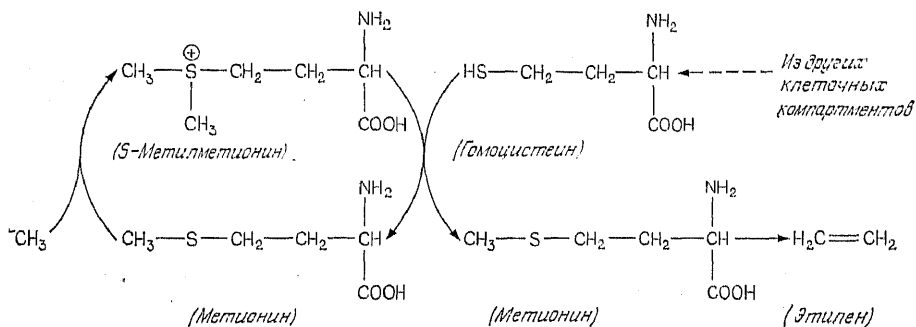


Рис. 3.8. Путь синтеза этилена в растительных тканях и связанный с ним гипотетический цикл превращений метионина. Обратите внимание, что непосредственным предшественником этилена является 1-аминоциклопропан-1-карбоновая кислота (АЦК) и что АЦК образуется из S-аденозилметионина (SAM). Образование SAM из метионина индуцирует АТФ в присутствии метионин-аденозилтрансферазы. Ауксины стимулируют превращение SAM → АЦК, ускоряя синтез АЦК-синтетазы. Реакция АЦК → C₂H₄ строго аэробна.

рость образования этилена в этих тканях регулируется поступлением гомоцистеина в те компартменты клетки, где из S-метилметионина (SMM) сначала синтезируется метионин, а затем уже метионин используется для образования этилена в соответствии с приведенной ниже схемой (схема показывает, что SMM может быть донором метильных (—CH₃) групп и что в процессе старения лепестков метильные группы переносятся на гомоцистеин с образованием двух молекул метионина. Одна из этих молекул снова метилируется с образованием SMM, а дру-

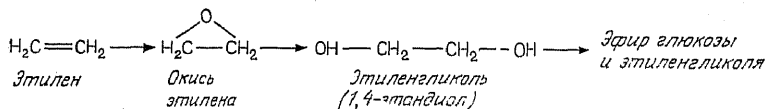
гая же сохраняется в виде свободной аминокислоты и, следовательно, может способствовать усиленному образованию этилена):



Инактивация этилена. До последнего времени считали, что высшие растения не обладают специальным механизмом разрушения этилена. Это представлялось естественным, так как возможным способом регуляции концентрации эндогенного этилена считали диффузию этого газа из растительных тканей (см. с. 107). Другими словами, казалось, что эманация растениями этилена играет примерно такую же роль в регуляции концентрации этилена, как в случае других регуляторов роста процесс их разрушения.

Однако совсем недавно было обнаружено, что на самом деле растения способны метаболизировать этилен. Среди идентифицированных продуктов превращений этилена можно назвать окись этилена, этиленгликоль (1,2-этандиол) и конъюгат этиленгликоля с глюкозой. Окисление этилена, очевидно, происходит на медьсодержащем рецепторе, поскольку оно ингибируется ионами кобальта и серебра, а также агентами, хелатирующими Cu^{2+} (например, ЭДТА). Было высказано предположение, что Co^{2+} и Ag^{2+} могут замещать медь в рецепторе, на котором происходит окисление этилена. Участие меди в окислении этилена подтверждается также тем фактом, что в простых водных растворах медь образует комплекс с C_2H_4 , и в результате выделяется окись этилена.

Таким образом, катаболизм этилена в растениях, по-видимому, сводится к следующим реакциям:



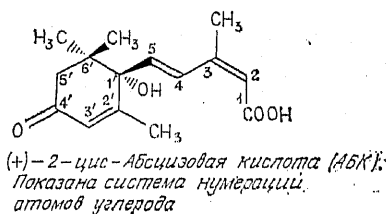
Дальнейшие превращения в растениях этиленгликоля и его эфира с глюкозой пока неизвестны, но по аналогии с микроорганизмами можно предположить, что этиленгликоль превращается в ацетальдегид, а затем в уксус.

Итак, в последнее время появилось достаточно оснований считать, что не весь синтезируемый в растениях этилен выделяется в атмосферу, и из этого открытия вытекает несколько немаловажных следствий. Так, оценка скорости биосинтеза этилена обычно основывается на допущении, что скорость его эманации пропорциональна скорости образования (см. выше, с. 108). Совершенно ясно, что по крайней мере у растений, которые могут метаболизировать этилен, такое допущение и сделанные на его основе выводы становятся неверными.

3.6. АБСЦИЗОВАЯ КИСЛОТА

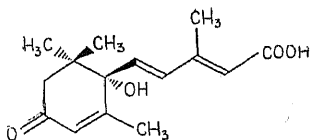
Результаты проведенных в 50-х и начале 60-х годов исследований по опадению листьев и покою почек и семян (гл. 11 и 12) показали, что в растениях, возможно, существует гормональный ингибитор роста. Наконец, в 1965 г. было выяснено химическое строение такого ингибитора из плодов и листьев хлопчатника. В том же году из покоящихся почек явора (*Acer pseudoplatanus*) было выделено и идентифицировано это же самое вещество.

Вещество, выделенное из *Acer pseudoplatanus* и хлопчатника, было названо абсцизовой кислотой (АБК). Оно оказалось сесквитерпеноидом (с. 93) следующего строения:



Молекула абсцизовой кислоты содержит асимметрический атом углерода (1') и поэтому обнаруживает оптическую изомерию. Однако в тканях растений встречается только (+)-форма. Абсцизовая кислота проявляет также геометрическую изомерию. По стерическим соображениям молекула всегда должна находиться в *транс*-конфигурации относительно 5-го атома углерода боковой цепи, но по отношению ко 2-му атому углерода боковой цепи она может быть либо в *цис*-, либо в *транс*-конфигурации. Большая часть АБК, содержащейся в растительных экстрактах, представляет собой (+)-2-*цис*-АБК, хотя может

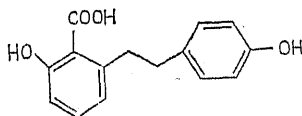
также содержатся некоторое количество (+)-2-транс-АБК:



2-транс-Абсцизовая кислота

Для простоты природное соединение (+)-2-цис-АБК называют просто абсцизовой кислотой, или АБК.

Абсцизовая кислота была выделена из ряда покрытосеменных, голосеменных, папоротников и мхов, но ее, по-видимому, нет у печеночников. Вместе с тем у представителей по крайней мере восьми видов печеночников и некоторых водорослей была обнаружена *лунуларовая кислота*, которая у этих организмов, вероятно, играет физиологическую роль, аналогичную роли АБК у более высокоразвитых растений. Лунуларовая кислота является очень мощным ингибитором роста, и, кроме того, у некоторых печеночников она, возможно, участвует в регуляции роста почек и состояния покоя.



Лунуларовая кислота

Недавно появилась хорошая возможность детального изучения химии биосинтеза АБК, так как было обнаружено, что патогенный гриб *Cercospora rosicola*, возбудитель пятнистости листьев розы, синтезирует и выделяет в культуральную среду большие количества АБК.

3.6.1. Метаболизм абсцизовой кислоты

Биосинтез АБК. Поскольку АБК является сесквитерпеноидом, растения, вероятно, используют для ее синтеза обычный путь биосинтеза терпеноидов до стадии фарнезилпирофосфата (рис. 3.5). Было показано, что введение в растительные ткани радиоактивной мевалоновой кислоты приводит к образованию радиоактивной АБК, и весь накопленный в настоящее время экспериментальный материал убеждает нас в том, что синтез АБК может идти по пути синтеза изопреноидов. Однако фотоокисление некоторых природных каротиноидов, таких, как виолаксантин, также приводит к образованию ингибиторов роста,

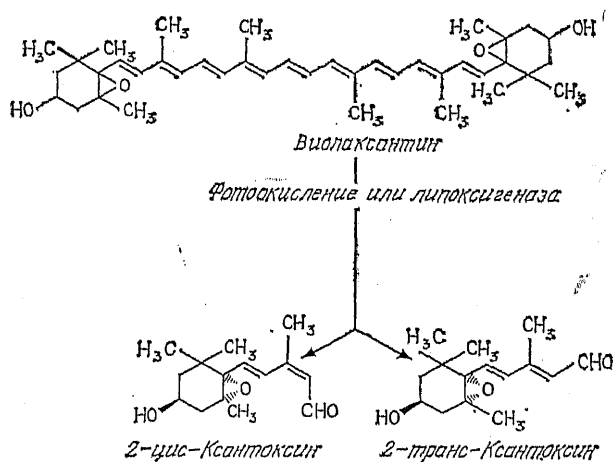


Рис. 3.9. Интенсивное освещение каротиноидов типа виолаксантина может привести к их распаду с образованием таких ингибиторов роста, как ксантоксин, структура которого очень близка к структуре абсцизовой кислоты (АБК). Возможно, что некоторая часть растительной АБК возникает путем дальнейших превращений продуктов распада каротиноидов, хотя считают, что большая часть природной АБК синтезируется непосредственно по пути биосинтеза терпеноидов.

очень близких по структуре к АБК (рис. 3.9). Дальнейшие превращения этих соединений приводят к образованию АБК. Для фотоокисления каротиноидов в АБК-подобные соединения требуются очень высокие интенсивности света. По этой и ряду других причин кажется очень маловероятным, чтобы таким путем из каротиноидов образовывалось физиологически столь важное соединение, как АБК. Действительно, АБК содержится в этиолированных растениях; ее уровень резко повышается при водном дефиците, даже если растения находятся на рассеянном свете или в темноте. Следовательно, основным путем синтеза АБК в растениях является прямой синтез из мевалоновой кислоты через фарнезилпирофосфат, хотя в некоторых тканях определенную роль в биосинтезе АБК может играть также ферментативное окисление виолаксантина в ксантоксин липоксигеназой.

Локализация синтеза АБК в растениях еще не установлена достаточно точно, но некоторые косвенные данные указывают на то, что большая часть или, возможно, вся АБК образуется в закончивших рост зеленых листьях и плодах. Из листьев АБК передвигается в другие части растения, такие, как апексы побегов, подавляя там рост и, возможно, вызывая переход некоторого числа почек к покою (см. гл. 11). По некоторым экспериментальным данным, центрами синтеза АБК могут служить пластиды, в частности хлоропласты.

Инактивация АБК. Концентрация эндогенной АБК колеблется в зависимости от скорости роста растения, его водного режима и времени года. Следовательно, в растительных тканях должен происходить не только синтез АБК, но и инактивация ее молекул. О факторах, регулирующих инактивацию АБК, мы знаем сравнительно мало, но известно, что введенная в растения ^{14}C -АБК быстро образует сложный эфир с глюкозой. Этот эфир в растениях, по-видимому, очень стабилен и обладает АБК-подобной гормональной активностью. Однако разрушение АБК также происходит, причем его первые стадии заключаются в гидроксильровании и окислении метильных замещений в кольце. Проведенная до сих пор работа по метаболизму вводимой 2- ^{14}C -(+)-АБК показала, что у томатов экзогенная АБК быстро превращается в сложный эфир с глюкозой и в фазеевую кислоту, но у *Phaseolus vulgaris* основными продуктами метаболизма АБК являются фазеевая, дигидрофазеевая и 4-эпи-дигидрофазеевая кислоты, а в семенах *Robinia pseudacacia* в качестве метаболита АБК идентифицирована β -гидрокси-1-метилглутарилгидрокси-АБК (рис. 3.10). Пока мы не знаем вполне определенно, одинаков ли механизм распада эндогенной

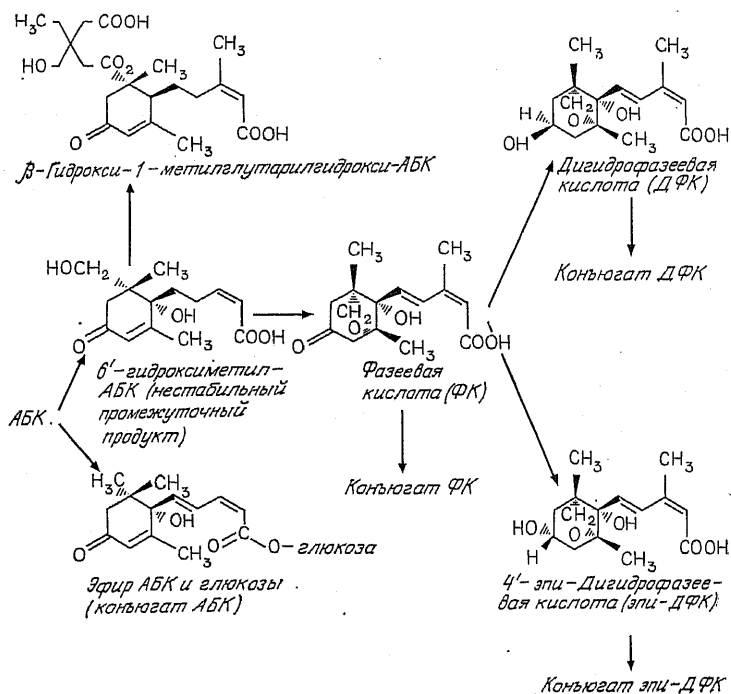


Рис. 3.10. Известные способы биохимической инактивации абсцизовой кислоты (АБК) в растениях.

и экзогенной АБК, но возможно, что это так, поскольку и фазеевая, и дигидрофазеевая, и эпи-дигидрофазеевая кислоты встречаются в растениях.

По некоторым данным, фазеевая кислота может выступать в роли регулятора физиологических процессов в растениях, например подавлять фотосинтез у растений, подвергнутых водному стрессу.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Abeles F. B., 1973. Ethylene in Plant Biology, Academic Press, New York and London.
Audus L. J., 1972. Plant Growth Substances, 3rd ed., vol. 1, L. Hill Ltd., London.
Paley L. G., West G. A., 1972. The gibberellins. In: F. C. Steward (ed.), Plant Physiology—a Treatise, Academic Press, New York, pp. 146—180.
Thimann K. V., 1972. The natural plant hormones. In: F. C. Steward (ed.), Plant Physiology—a Treatise, Academic Press, New York, pp. 3—332.
Wilkins M. B. (ed.), 1969. Physiology of Plant Growth and Development, McGraw-Hill, London.

Специальная литература

- Abeles F. B. (1972). Biosynthesis and mechanism of action of ethylene, Ann. Rev. Plant Physiol., 23, 259—292.
Blomstrom D. C., Beyer E. M., Jr. (1980). Plants metabolise ethylene to ethylene glycol, Nature, 283, 66—68.
Dodds J. H., Musa S. K., Jerie P., Hall M. A. (1979). Metabolism of ethylene to ethylene oxide by cell-free preparations from *Vicia faba* L., Plant Science Letters, 17, 109—114.
Galston A. W., Hillman W. S., 1982. The degradation of auxin, Encycl. Plant Physiol., 14, 674.
Gordon S. A., 1982. The biogenesis of auxin, Encycl. Plant Physiol., 14, 620.
Graebe J. E., Roberts H. J., 1978. Gibberellins. In: Phytohormones and Related Compounds—A Comprehensive Treatise, vol 1 (eds. D. S. Letham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 107—204.
Hall R. H. (1973). Cytokinins as a probe of developmental processes, Ann. Rev. Plant Physiol., 24, 415—444.
Hedden P., MacMillan J., Phinney B. O. (1979). The metabolism of gibberellins, Ann. Rev. Plant Physiol., 29, 149—192.
Hillman J. R. (ed.), 1978. Isolation of Plant Growth Substances, Cambridge University Press.
Kefeli V. I., Kadyrov Ch. Sh. (1971). Natural growth inhibitors. Their chemical and physiological properties, Ann. Rev. Plant Physiol., 22, 185—196.
Lang A. (1970). Gibberellins: Structure and metabolism, Ann. Rev. Plant Physiol., 21, 537—570.
Letham D. S., 1978. Cytokinins. In: Phytohormones and Related Compounds—A Comprehensive Treatise, vol. 1 (eds. D. S. Letham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 05—263.
Lieberman M. (1979). Biosynthesis and action of ethylene, Ann. Rev. Plant Physiol., 30, 533—591.
Milborrow B. V. (1974). The chemistry and physiology of abscisic acid, Ann. Rev. Plant Physiol., 25, 259—307.

- Milborrow B. V.*, 1978. Absciscic acid. In: *Phytohormones and Related Compounds—A Comprehensive Treatise*, vol. 1 (eds. D. S. Letham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 295—347.
- Pilet P. E. (ed.)*, 1977. *Proc. 9th Int. Conf. Plant Growth Regulating Substances, Plant Growth Regulation*, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg.
- Schneider E. A., Wightman F.* (1974). Metabolism of auxin in higher plants, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 25, 487—513.
- Schneider E. A., Wightman F.*, 1978. Auxins. In: *Phytohormones and Related Compounds—A Comprehensive Treatise*, vol. 1 (eds. D. S. Letham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 29—105.
- Shantz E. M.* (1966). The chemistry of naturally-occurring growth-regulating substances, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 17, 409.
- Skoog F., Armstrong D. J.* (1970). Cytokinins, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 21, 359—384.
- Skoog F., Schmitz R. Y.* (1972). Cytokinins. In: *F. C. Steward (ed.), Plant Physiology—a Treatise*, Academic Press, New York, pp. 181—212.
- Wightman F., Setterfield G. (eds.)*, 1969. *Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances*, The Runge Press, Ottawa.
- Zeevaart J. A. D.*, 1979. Chemical and biological aspects of absciscic acid, *ACS Symposium Series*, No. 111, *Plant Growth Substances* (ed. Bhushan Mandava), pp. 99—114.

Глава 4

Механизмы действия фитогормонов

4.1. ВВЕДЕНИЕ

Каждый из известных классов фитогормонов может влиять на несколько процессов, участвующих в развитии. Кроме того, физиологическое действие этих гормонов в значительной степени перекрывается. Множественное действие фитогормонов и их взаимодействие полнее будет раскрыто в последующих главах, а в данной главе мы рассмотрим возможные пути регуляторного влияния гормонов на субклеточном уровне. Это одна из наиболее фундаментальных проблем в физиологии развития растений, поэтому в течение многих лет она является предметом чрезвычайно интенсивных исследований. Влияние гормонов на все стороны развития растений очень обширно, и в связи с этим понимание их действия на субклеточном уровне крайне важно для решения общих проблем развития.

Что же означает такое понятие, как «механизм действия»? К сожалению, разные физиологи растений трактуют его по-разному. Так, некоторые исследователи часто не делают различий между двумя сторонами действия гормона: 1) прямым и специфичным молекулярным взаимодействием между гормоном и его рецептором, являющимся первой, регулирующей последующие, стадией действия гормона, и 2) последующей серией событий, индуцируемых взаимодействием гормона и рецептора. Эти события включают биохимические изменения, которые в конце концов приводят к физиологическому и морфологическому ответу на гормон.

Некоторые исследователи считают, что «механизмом действия» следует называть только реакцию между гормоном и его рецептором, а все процессы, которые эта реакция вызывает или ускоряет, нужно относить к «способу действия» гормона. Различие между этими понятиями очень невелико, но при изучении субклеточного действия гормона такое разделение, несомненно, помогает сосредоточивать основное внимание на выяснении природы *первичной регулирующей реакции*, которая через ряд промежуточных ступеней приводит к ответной реакции растения. Другими словами, выясняя, как гормон действует на клетку, исследователь главным образом должен заниматься первичным, а не вторичным действием фитогормонов.

Гормоны очень редко определяют тип ответной реакции клетки или ткани. Подробнее мы поговорим об этом позже (гл. 13). Один и тот же гормон у разных клеток может вызывать различные ответные реакции, поэтому создается впечатление, что характер клеточного ответа обычно предопределен; иными словами, запрограммированный тип развития клетки заставляет ее специфическим образом отвечать на данный гормональный сигнал. Например, клетка колеоптиля в ответ на действие ауксина начнет увеличиваться в размерах, а клетка камбия вступит в митоз. Обычно считают, хотя это пока не вполне доказано, что каждый фитогормон имеет только один механизм действия независимо от вызываемой им ответной реакции (способа действия). Итак, задача исследователя в этой области сводится к тому, чтобы сначала идентифицировать исходную реакцию клетки на гормон (предположительно взаимодействие гормона и рецептора), а затем раскрыть, каким образом это приводит к различным и весьма существенным изменениям в метаболизме клетки.

На этом основании можно было бы считать, что все исследования по механизму действия гормонов прямо связаны с изучением реакции клетки на гормоны. Фактически же большинство опубликованных экспериментальных данных касается вторичных эффектов гормонов, т. е. «способа», которым достигаются ответные реакции на него. Причин для этого несколько. Одна из них, и отнюдь не второстепенная, заключается в том, что нельзя судить о месте отдельного явления в общей цепи событий прежде, чем что-то узнаешь о нем. Другими словами, легко быть мудрым, когда опыт уже приобретен. Кроме того, работа по вторичному влиянию гормонов в значительной степени способствовала расширению наших представлений о клеточных процессах вообще и помогла понять, где искать первичные процессы, регулируемые гормонами.

Исторически и практически сложилось так, что опыты по изучению механизма действия гормонов обычно касались специфических физиологических ответных реакций. Например, как мы увидим далее, при изучении ауксинов основное внимание сконцентрировалось на механизме регуляции ими роста клеток растяжением, тогда как при изучении гиббереллинов — на системе синтеза и секреции ферментов алейроновым слоем прорастающих семян злаков. Для выяснения механизма действия фитогормонов многие годы использовались различные подходы. Не все они оказались плодотворными, но такая работа, как выяснение зависимости гормональной активности от молекулярной структуры соединений, дала информацию, которая теперь приобретает ценность в связи с недавними попытками выделить из растительных клеток и непосредственно изучить места связывания гормонов.

Теперь мы обсудим, что известно о механизме действия каждого класса фитогормонов, черпая соответствующую информацию из различных экспериментальных подходов, которые применялись для решения этой проблемы.

4.2. ЗАВИСИМОСТЬ ГОРМОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ОТ ХИМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ МОЛЕКУЛ

После установления в 1934 г. того факта, что 3-индолилуксусная кислота (ИУК) является природным фитогормоном, исследователей заинтересовало, какие «особенности» строения ее молекулы обуславливают столь глубокое влияние этого гормона на процессы роста и развития. Казалось, что такое знание поможет понять механизм внутриклеточного действия ауксинов. Позднее, после открытия гиббереллинов, цитокининов, этилена и абсцизовой кислоты, исследование этих гормонов шло теми же путями.

4.2.1. Взаимосвязь структуры и активности ауксинов

Используемые для решения этой проблемы методы в значительной степени были эмпирическими: многочисленные соединения испытывали в соответствующих биотестах, чтобы выявить те из этих соединений, которые обладали «ауксиновой активностью». Некоторые из этих соединений даже в очень низких концентрациях действительно оказывали такое же влияние, как ИУК. С годами было обнаружено большое число таких соединений. Все они были синтезированы в лабораторных условиях, и поэтому их называли *синтетическими ауксинами*. В химическом отношении синтетические ауксины не составляют единого класса соединений, но, несмотря на разнообразие их строения, были предприняты серьезные попытки, продолжающиеся до сих пор, с целью точно установить, какими свойствами должна обладать молекула, чтобы проявлять ауксиновую активность. Исследователи надеялись, что, выяснив эти свойства, они поймут механизм действия ауксина в растительных клетках.

Первые полученные синтетические ауксины представляли собой соединения, очень близкие по структуре к ИУК (т. е. это были производные индола), такие, как α -индолил-3-пропионовая, γ -индолил-3-масляная и β -индолил-3-пировиноградная кислоты (рис. 4.1) (последняя обнаружена также в растениях). Однако позже были открыты многие другие синтетические ауксины, по своей структуре сильнее отличающиеся от ИУК. Некоторые наиболее активные из них, например 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д), 2,4,5-трихлорфеноксиуксусная кислота (2,4,5-Т) и 4-хлор-2-метилфеноксиуксусная кислота (МХФК) (рис. 4.1), не являются индольными соединениями.

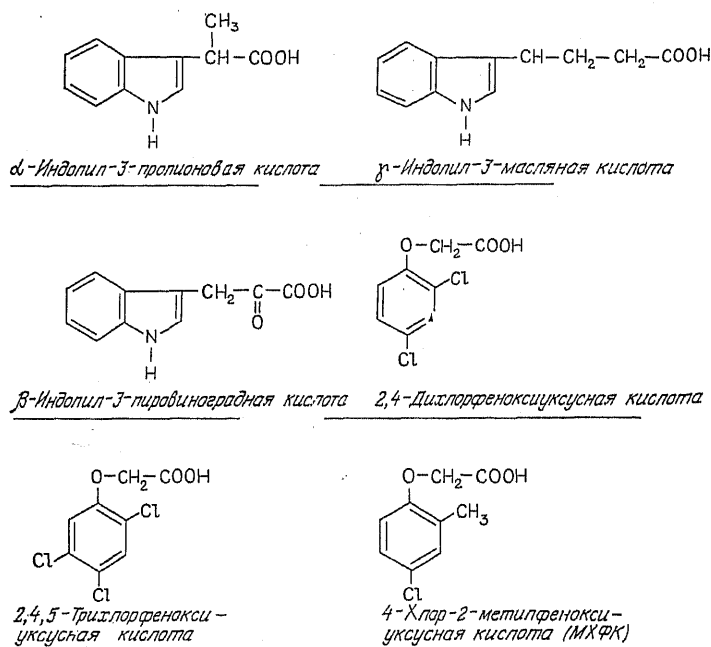
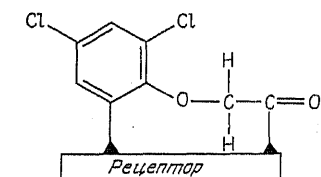


Рис. 4.1. Структурные формулы некоторых природных и синтетических ауксинов.

В 1938 г. на основании сравнения структуры всех известных в то время синтетических и природных ауксинов был составлен список основных требований, которым должна удовлетворять молекула, чтобы проявлять свойства ауксина. Согласно этим требованиям, активная молекула должна обладать: 1) системой колец, содержащих по крайней мере одну двойную связь; 2) боковой цепью с карбоксильной группой (или группой, легко превращающейся в карбоксильную); 3) по крайней мере одним атомом углерода, расположенным между кольцом и карбоксильной группой боковой цепи; 4) определенным пространственным расположением карбоксильной группы по отношению к кольцу. Позднее эти требования были дополнены еще одним: активная молекула ауксина должна обладать способностью вступать в ковалентную связь в *орто*-положении по отношению к боковой цепи, несущей карбоксильную группу. Все синтетические ауксины, изображенные на рис. 4.1, отвечают этим общим требованиям, но теперь известны и другие соединения с ауксиновой активностью, не полностью соответствующие перечисленным выше структурным особенностям. Например, некоторые производные

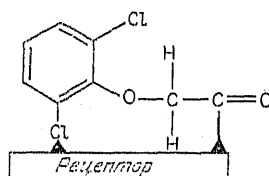
бензойной кислоты не имеют боковой цепи, но являются активными ауксинами (рис. 4.3), а некоторые тиокарбаматы активны, несмотря на отсутствие ненасыщенного кольца. Правда, в этом случае необходимо, чтобы их молекулы имели плоскую конфигурацию. И наконец, сейчас считают, что важна не способность к образованию ковалентной связи в *орто*-положении, а присутствие небольшого положительного заряда в определенном месте кольца (с. 123).

На основе допущения, что для активности ауксина важно присутствие боковой цепи, заканчивающейся карбоксильной группой и «свободного» *орто*-положения кольца, было высказано предположение, что именно эти две части его молекулы (карбоксил боковой цепи и *орто*-положение кольца) участвуют в основных реакциях в клетке. Это привело к созданию так назы-



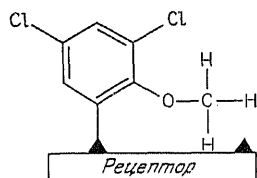
(2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота)

Активный ауксин; прикрепляется к двум активным участкам рецептора



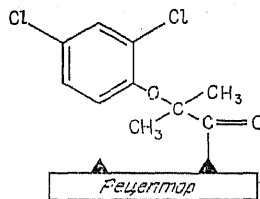
(2,6-дихлорфеноксиуксусная кислота)

Неактивна, так как оба *орто*-положения заняты атомами хлора



(2,4-дихлоранизол)

Неактивен из-за отсутствия карбоксильной группы на конце боковой цепи



(2,4-дихлорфеноксиизомасляная кислота)

Неактивна, так как пространственная конфигурация препятствует взаимодействию между активным центром рецептора и *о*-положением кольца, хотя оно и не блокировано

Рис. 4.2. Теория двухточечного присоединения ауксинов, проиллюстрированная путем сравнения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) с тремя неактивными аналогами.

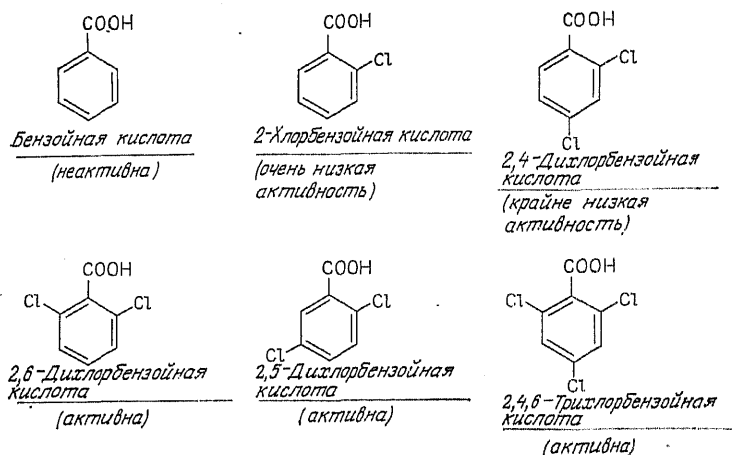


Рис. 4.3. Активные и неактивные ауксины из ряда хлорсодержащих производных бензойной кислоты. Обратите внимание, что как 2,4-дихлорбензойная, так и 2,4,6-трихлорбензойная кислоты активны, хотя у них оба *орто*-положения кольца заняты атомами галогена.

ваемой теории *двухточечного присоединения ауксинов*. Исследователи, выдвинувшие эту теорию, предположили, что по этим двум положениям образуются ковалентные (т. е. химические) связи между молекулой ауксина и каким-либо компонентом клетки, например белком. На рис. 4.2 на примере некоторых из хлорсодержащих фенокси соединений хорошо проиллюстрированы основные принципы теории двухточечного присоединения. Кроме того, из этого рисунка очевидна справедливость отдельных перечисленных выше структурных требований к молекуле ауксина.

Следует подчеркнуть, что и список структурных требований к молекуле ауксина, и теория двухточечного присоединения теперь устарели. Совершенно ясно, что активность ряда синтетических ауксинов, таких, как производные бензойной кислоты (рис. 4.3), нельзя адекватно объяснить, исходя из списка, составленного в 1938 г., и теории двухточечного присоединения. С годами было выдвинуто несколько альтернативных гипотез, в том числе теории *трехточечного* и *многоточечного присоединения*. Однако до сих пор неизвестно, прикрепляется ли молекула ауксина к какому-то рецептору в клетке ковалентной (химической) связью или связь эта носит физический характер. Большинство исследователей считают последнее более вероятным. Одно из предположений, основанных на изучении физических свойств активных молекул, заключается в том, что взаимодействие ауксин—рецептор обусловлено электростатическими вац-

дерваальсовыми силами. Так, сравнение ряда ауксинов показало, что их молекулы обладают сильным отрицательным зарядом (возникающим при диссоциации карбоксильной группы), который отделен от более слабого положительного заряда на кольце расстоянием в 5,5 Å (рис. 4.4). Возникло предположение, что эта особенность молекул важна для их ауксиновой активности. С помощью этой гипотезы можно объяснить различия в активности многих синтетических ауксинов. Различия между близкими соединениями, очевидно, связаны с влиянием замещений в кольце на расположение и размер положительного заряда. Ни природа, ни внутриклеточная локализация рецептора ауксинов пока неизвестны.

Итак, интенсивное изучение особенностей молекулярного строения ауксинов пока не привело к пониманию основного механизма влияния этих соединений на рост и дифференцировку. Однако в ходе этой работы были обнаружены некоторые практически важные соединения, оказавшиеся очень ценными для сельского хозяйства и садоводства, такие, как гербициды избирательного действия, вещества, способствующие завязыванию плодов или укоренению (гл. 5).

4.2.2. Взаимосвязь структуры и активности гиббереллинов

Как мы уже говорили в гл. 3, сейчас известно 58 химически охарактеризованных гиббереллинов. Все они были выделены из природных источников, из гриба *Gibberella fujikuroi* или из различных видов высших растений. Структура первых 29 гиббереллинов (A_1 — A_{29}) изображена по определенной системе на рис. 4.5.

Все они (а также не изображенные на рисунке A_{30} — A_{58}) обладают одинаковым углеродным скелетом, порядок нумера-

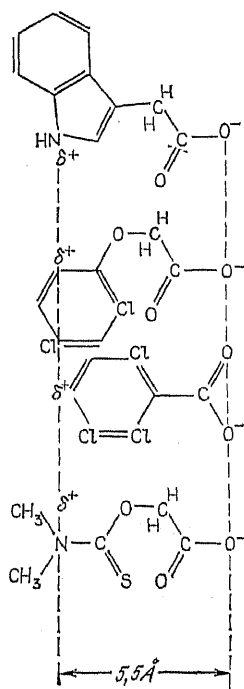
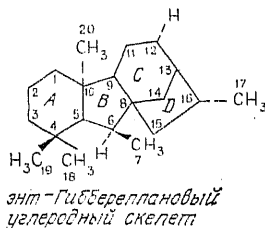


Рис. 4.4. Примеры различных молекул активных ауксинов. Их общей чертой является наличие сильного отрицательного заряда (—), отделенного от более слабого положительного заряда (δ+) расстоянием в 5,5 Å. (K. V. Thimann. Ann. Rev. Plant Physiol., 14, 1—18, 1963.)

Сверху вниз: 3-индолил-уксусная кислота; 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота; 2,5,6-трихлорбензойная кислота, карб-оксиметилтнокарбамат.

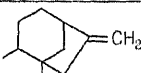
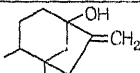
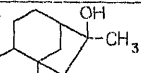
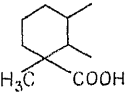
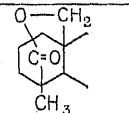
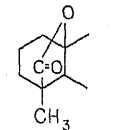
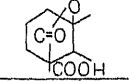
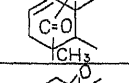
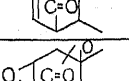
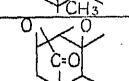
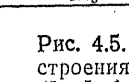
ции атомов которого представлен ниже:



Структурные различия между разными гиббереллинами заключаются главным образом в числе и расположении гидроксильных (—OH) групп и степени насыщенности кольца А. Современные знания позволяют предположить, что любая молекула, обладающая биологической активностью гиббереллинов, должна содержать основной гиббереллановый углеродный скелет с расположенными в определенных местах замещающими радикалами.

Следует заметить, что не все известные гиббереллины одинаково эффективно стимулируют рост. И в самом деле, гиббереллины можно различать по их активности в различных биотестах, проведенных на разных видах растений. Хорошим примером может служить влияние гиббереллинов на рост карликовых мутантов кукурузы (*Zea mays*). У кукурузы имеется ряд генов, мутация каждого из которых приводит к карликовости. Было обнаружено, что определенные гиббереллины эффективно стимулируют рост одних карликовых мутантов, тогда как для роста других мутантов нужны другие гиббереллины. В связи с этим предположили, что мутантные гены у кукурузы в первую очередь влияют на содержание эндогенных гиббереллинов, препятствуя прохождению той или иной стадии биохимического пути, ведущего к синтезу необходимого для нормального роста гиббереллина. Так, например, было обнаружено, что у α -5-мутанта *Zea mays* вместо энт-каурена (см. рис. 3.5) образуется *изо*-каурен и что растения не могут превратить его в гиббереллины.

Активность различных гиббереллинов различна, но все активные гиббереллины обладают карбоксильной группой, присоединенной к 7-му атому углерода. Кроме того, все C_{19} -гиббереллины (т. е. в основе которых лежит энт-20-нор-гиббереллановая структура; см. гл. 3) активнее C_{20} -гиббереллинов. Среди C_{19} -гиббереллинов более активны молекулы с двойной связью между 1-м и 2-м углеродными атомами, а также молекулы, подвергнутые β -гидроксилированию и β ,13-дигидроксилированию. Среди C_{20} -гиббереллинов наиболее активны гиббереллины с δ -лактоновым кольцом, пересекающим кольцо А, или

Кольцо А	Замещения		Кольца С и D		
	Положение углерода	Группа			
	10	-CH ₃	A ₁₂		
	10	-CHO	A ₂₄	A ₁₉	
	10	-COOH	A ₂₅	A ₁₇	
	{ 10 3	{ -CH ₃ -OH }	A ₁₄	A ₁₈	
	{ 10 3	{ -CHO -OH }		A ₂₃	
	{ 10 3	{ -COOH -OH }	A ₁₃	A ₂₈	
	—	—	A ₁₅		
	3,2	-OH	A ₂₇		
	—	—	A ₉	A ₂₀	A ₁₀
	3	-OH	A ₄	A ₁	A ₂
	2	-OH		A ₂₉	
	3,1	-OH	A ₁₆		
	3,2	-OH		A ₈	
	3,2 12	-OH =O	A ₂₆		
	—	—		A ₂₁	
	3	-OH	A ₇	A ₃	
	4	-CH ₃		A ₅	
	4	-CH ₂ OH		A ₂₂	
	—	—		A ₆	
	—	—	A ₁		

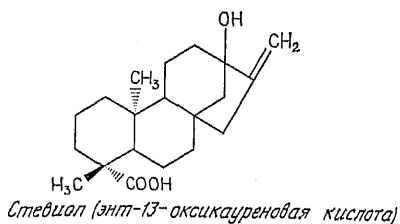
C₂₀ — гиббереллиныC₁₉ — гиббереллины

Рис. 4.5. Сводная таблица, составленная на основании сравнения химического строения 29 гиббереллинов, которые были первыми выделены из растений. (L. J. Audus, Plant Growth Substances, vol. 1, Chemistry and Physiology, 3rd ed. Leonard Hill, London, 1972.)

Показана взаимосвязь отдельных элементов структуры этих гиббереллинов.

с альдегидной группой (—CHO) в положении C₂₀. Одним из наиболее поразительных свойств гиббереллинов является, как мы уже говорили в гл. 3, утрата активности при 2β-гидроксировании. Вместе с тем было обнаружено, что встречающийся в растениях дитерпеноид *стевиол*, не имеющий гибберелланового

углеродного скелета, проявляет свойства очень слабого гиббереллина, очень незначительно стимулируя рост. Однако это, по-видимому, обусловлено ферментативным превращением стевиола в растениях в какую-то его активную форму, а не собственно гормональным действием этого соединения.



4.2.3. Взаимосвязь структуры и активности цитокининов

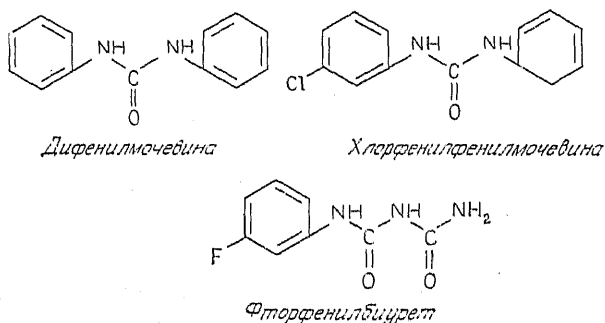
Как мы уже знаем из гл. 3, все основные известные природные цитокинины являются производными аденина, к 6-му атому углерода которого присоединена боковая цепь из пяти атомов углерода. Систематическое изучение 6-замещенных пуринов показало, что если боковая цепь *не* содержит колец, то оптимальное число атомов углерода боковой цепи равно пяти. При увеличении или уменьшении длины алифатической боковой цепи физиологическая активность цитокинина снижается, но не обязательно утрачивается полностью. Так, например, удлинение боковой цепи даже до десяти атомов углерода (6-дециламинопурин) не приводит к полной потере активности. Боковая цепь цитокининов должна быть неполярной; кроме того, активность соединений увеличивается, если алифатическая боковая цепь содержит двойную связь.

Помимо природных цитокининов существует очень большое число соединений, не встречающихся в растениях, но обладающих цитокининовой активностью. Мы уже упоминали о таких синтетических цитокинах, как кинетин и бензиладенин (с. 101), содержащих ароматические боковые цепи. Некоторые из этих синтетических цитокининов по крайней мере столь же или даже более активны, чем природные цитокинины. Бензиладенин, например, в некоторых биотестах даже активнее, чем зеатин (самый сильный природный цитокинин).

Вообще говоря, всякая модификация аденинового кольца приводит к снижению цитокининовой активности. Так, рибозиды или риботиды цитокининов (с. 102) менее активны, чем свободные цитокинины. Присоединение других радикалов или любые другие замещения в адениновом кольце всегда снижают или полностью снимают гормональную активность. Однако у некоторых 1-замещенных производных аденина была обнаружена ци-

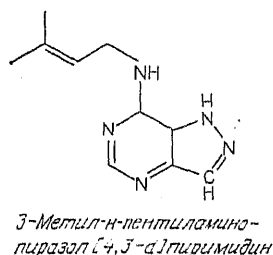
токининовая активность, которая, возможно, является следствием их ферментативного превращения в растениях в 6-замещенные активные соединения.

Исключение из общего правила, согласно которому цитокинины представляют собой 6-замещенные аденины, составляют ряд фенилмочевин и близких к ним биуретов. Хотя фенилмочевины гораздо менее активны, чем позднее открытые пуриновые цитокинины, несколько сотен соединений этого ряда обладает цитокининовой активностью, причем наиболее активна хлорфе-



нилфенилмочевина. Все активные фенилмочевины должны как минимум иметь —NH—CO—NH— мостик и плоское фенильное кольцо. С первого взгляда трудно обнаружить какие-либо общие черты в структуре этих соединений и производных аденина. Одной из таких общих черт строения является наличие группировки —N—C—N— ; у производных аденина содержатся четыре такие группировки, а у мочевины — одна. Шестичленное пиримидиновое кольцо аденина может быть аналогичным фенильному кольцу мочевины и активных биуретов (например, вышеприведенного фторфенилбиурета), а аминный азот аналогов пурина аналогичен *мета*-заместителям (например, Cl) у фенилмочевин.

В работе с аналогами цитокининов было сделано интересное открытие. Оказалось, что некоторые соединения, например пирразол [4,3-*d*]пиримидины, ведут себя как антагонисты цитокининов, конкурируя с ними. Один из наиболее сильных антицитокининов имеет следующее строение:



Эти конкуренты цитокининов (и другие их антагонисты, действующие по иному принципу), вероятно, окажутся полезными при изучении механизма действия цитокининов.

Итак, работа по изучению взаимосвязи структуры и активности цитокининов привела к ситуации, по существу аналогичной ситуации с ауксинами; было выявлено чрезвычайно большое число соединений, способных влиять на рост и дифференцировку подобно цитокининам. Поэтому до сих пор мы не можем сделать каких-либо разумных выводов о вероятном рецепторе для первичного действия цитокининов.

4.2.4. Исследование взаимосвязи структуры и активности, проведенное на аналогах этилена

Этилен, $\text{CH}_2=\text{CH}_2$, представляет собой ненасыщенный углеводород с низким молекулярным весом. Физиологическую активность ряда аналогов этилена сравнили с активностью самого этилена. Ни один из них не был так активен, как этилен, независимо от того, рассчитывали ли активность на концентрацию, выраженную в мг/л или в молях. При расчете в мг/л, например, пропилен, $\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}_2$, был примерно в 100 раз менее активен, чем этилен; активность ацетилен, $\text{CH}\equiv\text{CH}$, была меньше чем 1/2800 (за исключением случая индукции цветения ананасов, когда активность ацетилен была столь же высока, как активность этилена), а аллена, $\text{CH}_2=\text{C}=\text{CH}_2$, даже составляла величину менее чем 1/29 000 активности этилена.

Оксись углерода $\text{C}=\text{O}$ оказывает на растения такое же влияние, как этилен, однако в 2700 раз менее сильное. Двуокись углерода может действовать в растении как антагонист этилена. Причина этого, по-видимому, заключается в том, что молекула CO_2 структурно близка аллену и окиси углерода. Так, CO_2 в растении может конкурировать с этиленом за его рецептор. Поэтому физиологическая ответная реакция ткани на данную концентрацию этилена определяется наряду с другими факторами концентрацией CO_2 в ткани. Вместе с тем двуокись углерода не обладает какими-то свойствами, существенными для «этиленоподобного» действия.

В 1967 г. Бург и Бург перечислили свойства, которыми должна обладать молекула, чтобы хотя бы в какой-то мере заменить этилен:

1. Молекула должна быть ненасыщенной. Двойная связь придает соединению большую активность, чем тройная связь, а вещества, молекулы которых содержат только одинарные связи, неактивны.
2. Активность уменьшается с увеличением длины цепи.

3. Замещения, которые вызывают перераспределение электронов, ослабляющее двойную связь, снижают биологическую активность, хотя важны также и стерические факторы. Таким образом, природа заместителя может влиять на активность, изменяя плотность электронов в двойной связи и общий размер и форму молекулы.
4. Ненасыщенная связь должна примыкать к концевому атому углерода.
5. Концевой атом углерода не должен быть заряжен положительно.

Знание этих структурных особенностей, выясненных при сравнении физиологической активности этилена и его аналогов, а также того факта, что двуокись углерода является антагонистом этилена, не помогает нам понять ни природу рецептора этилена, ни способ взаимодействия гормона с рецептором. Мы только можем сказать, что участие водородных и ионных связей в этом взаимодействии маловероятно. По данным других экспериментов, в связывании этилена с рецептором участвуют слабые вандерваальсовы силы, а не ковалентные или координационные связи.

Существование аналогов этилена, биологическая активность которых в различной степени имитирует действие этилена, недавно оказалось полезным в работе с выделенным из растительных тканей предполагаемым рецептором этилена. Так, путем сравнения способности рецептора связывать этилен и его менее активные аналоги мы можем оценить специфичность и функциональную значимость места связывания этилена (см. Bengochea et al., 1980).

4.2.5. Химическое строение абсцизовой кислоты и ее физиологическая активность

Природный (+) и синтетический (—) оптические изомеры АБК одинаково воздействуют на растения, но из геометрических изомеров гормональной активностью обладает только 2-цис-форма (об изомерах АБК см. с. 111). В растительных экстрактах обнаружены лишь следы 2-транс-изомера, да и эти следовые количества образуются, вероятно, в результате изомеризации природной 2-цис-формы в процессе выделения и очистки. Поэтому, скорее всего, в клетках существует неизвестный пока рецептор только для 2-цис-формы АБК. Изучение аналогов АБК пока не много дало для понимания структурных требований к молекулам с АБК-подобной физиологической активностью. Ясно только, что для активности важно присутствие двойной связи в кольце.

4.3. ПРЯМЫЕ ДАННЫЕ, СВИДЕТЕЛЬСТВУЮЩИЕ О СУЩЕСТВОВАНИИ РЕЦЕПТОРОВ ФИТОГОРМОНОВ

В предыдущем разделе этой главы мы говорили о том, что активность фитогормонов всех классов определяется химическим строением и нередко стереоспецифичностью их молекул. В связи с этим естественно предположить, что в клетках существуют рецепторные молекулы, распознающие небольшие различия между активными и неактивными аналогами фитогормонов. Многие исследователи полагают, что рецепторами фитогормонов, вероятнее всего, являются белки, так как именно они обладают способностью распознавать соответствующую молекулярную структуру гормонов. Такая точка зрения подкрепляется исследованиями эндокринологов животных, которые выделили и охарактеризовали несколько специфичных белковых рецепторов для стероидных гормонов. Вместе с тем не так давно была проведена очень тщательная работа по выделению рецептора гиббереллина из гипокотилей салата-латука; полученные данные позволяют предположить, что рецептором гиббереллина является не белок, а, возможно, полисахарид клеточной стенки (фракция полигалактуронидов).

Однако до сих пор ни одна из попыток точно идентифицировать рецептор фитогормона не увенчалась успехом. В большинстве случаев исследователи пытаются выделить белковые рецепторы, используя при этом различные подходы. Чаще всего применяют меченные изотопами фитогормоны с высокой удельной активностью. Один из методов заключается во введении радиоактивного гормона в растительные ткани с их последующей гомогенизацией и фракционированием путем центрифугирования или гель-фильтрации в надежде обнаружить радиоактивность только в определенной клеточной фракции. При использовании другого подхода радиоактивный гормон вносят в различные выделенные клеточные фракции, такие, как ядра, изолированный хроматин, фракции мембран, и измеряют сродство этих фракций к фитогормону по степени его связывания с ними. Кроме того, были сделаны попытки определить локализацию меченых гормонов в клетках радиоавтографическими методами. Не вполне понятно, почему до сих пор не удалось выделить белковый рецептор ни для одного из фитогормонов. Следует сказать, что имеется ряд данных, предполагающих существование белковых рецепторов для цитокининов и гиббереллинов в растительных клетках, но наличие таких рецепторов еще не было подтверждено.

Не так давно были опубликованы очень многообещающие результаты работы по выделению из растений баскетболового препарата, активно и специфично связывающего этилен.

Этот препарат обладал свойствами, которые, как полагают, необходимы для рецептора этилена (см. Bengoshea et al., 1980; Hall et al., 1980). Предполагаемый рецептор этилена, по-видимому, является белком, связанным с внутриклеточными мембранами, такими, как мембраны телец Гольджи или эндоплазматического ретикулума. Все физиологически активные аналоги этилена (например, пропилен, винилхлорид, окись углерода, ацетилен и др.) конкурентно подавляют связывание этилена с этим рецептором, причем степень ингибирования находится в ожидаемой корреляции с их биологической активностью. Такие данные являются хорошим доводом в пользу того, что выделенная фракция, связывающая этилен, может функционировать в качестве его рецептора *in vivo*. И наконец, говоря о рецепторе этилена, следует упомянуть, что, согласно некоторым данным, при связывании этилена с рецептором не только реализуется его физиологическая активность, но и происходит превращение этилена в его окись и в этиленгликоль (см. гл. 3). Другими словами, действие этилена сопровождается его инактивацией.

Следует отметить, что, по мнению Кенда и Гарднера (1976), фитогормоны, возможно, связываются с рецепторами не так, как стероидные гормоны животных. Поэтому, может быть, неправильно а priori считать, что рецепторами гормонов в растительных клетках являются белки. Так, кривые, отражающие связь активности фитогормонов с их концентрацией, часто свидетельствуют о широком диапазоне активных концентраций (часто с амплитудой в четыре-пять порядков концентраций), тогда как животные гормоны эффективны в гораздо более узких концентрационных пределах. Сравнение кривых связывания животных гормонов также показывает, что если связывание стероидных гормонов животных следует кинетике насыщения Михаэлиса—Ментен, то связывание растительных гормонов происходит по-иному. Это также заставляет сомневаться в том, что рецепторы фитогормонов представляют собой специфические белки. А если рецепторы не белки, то остается только гадать об их возможной природе.

Однако некоторые эксперименты, о которых мы скажем позже, показали, что местом первичного действия фитогормонов являются клеточные мембраны, поэтому, вероятно, определенные клеточные мембраны служат специфическими рецепторами фитогормонов. Не исключено, конечно, что белковые рецепторы локализованы внутри мембран или связаны с ними. Если клетка содержит много рецепторов (возможно, белков) для данного гормона или группы гормонов, таких, как гиббереллины, то легче объяснить некоторые из перечисленных Кендом и Гарднером противоречий. Следовательно, у нас нет основания считать, что активно проводящиеся в настоящее время исследования по выделению из растительных клеток и идентификации рецепторов

фитогормонов не увенчаются в конце концов таким же успехом, как работа по идентификации рецепторов стероидных гормонов в клетках животных.

4.4. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФИТОГОРМОНОВ НА РОСТ КЛЕТОК РАСТЯЖЕНИЕМ

Как мы видели в первой главе этой книги, рост растений в основном является следствием вакуолизации клеток, переходящих из меристемы в зону растяжения. Наиболее ярко это положение иллюстрирует рост растяжением стеблей, колеоптилей, черешков и корней. Поэтому регуляция роста растений фитогормонами в значительной степени определяется их влиянием на процессы клеточного растяжения. Вследствие этого, а также из-за удобства работы с такими удлиняющимися структурами, как колеоптили или стебли, большая часть исследований по механизму действия фитогормонов посвящена явлению роста растяжением.

Конечно, при изучении действия гормонов на рост растяжением использовали разные подходы. Однако общей чертой, пожалуй, всех без исключения работ такого типа было удаление эндогенного источника изучаемого гормона (например, путем вырезания сегментов стеблей или колеоптилей) и последующее введение экзогенного гормона. Что же происходит при такой постановке опытов? Удаление природного гормона приводит к изменению скорости роста растяжением (к снижению или повышению ее в зависимости от типа гормона), а добавление экзогенного гормона частично или полностью восстанавливает исходную скорость роста. Следовательно, изучаемый эффект гормона является чисто количественным. Это означает, что не следует думать о гормональной индукции каких-то новых типов метаболической активности, например об изменении характера белкового синтеза, хотя, конечно, гормон может и обычно влияет на скорости синтеза белков, что приводит к различиям в скорости роста разных клеток.

Общая и фундаментальная черта всех растительных клеток состоит в том, что они окружены клеточной стенкой, и, следовательно, при росте клетки площадь клеточной стенки должна увеличиваться. В общем виде процесс увеличения размеров клетки растения может быть описан следующим уравнением:

$$\dot{v} = \phi \cdot L (\Delta\pi - Y) / L + \phi,$$

где \dot{v} — скорость роста клетки (т. е. относительное изменение объема клетки, dv/dt), ϕ — растяжимость клеточной стенки (т. е. ее пластичность), L — проницаемость клеток для воды,

$\Delta\pi$ — разность осмотических потенциалов клетки и окружающей среды и Y — пороговое значение тургора (т. е. то значение тургорного давления, после превышения которого клетка начинает растягиваться). Если, как это обычно и бывает, L относительно велико в сравнении с ϕ , то можно сократить L , и уравнение упростится:

$$\dot{v} = \phi (\Delta\pi - Y).$$

Как видно из первого приведенного уравнения, гормон может увеличивать скорость роста клеток только четырьмя способами; 1) понижая осмотический потенциал (π) клеток (т. е. увеличивая концентрацию внутриклеточных осмотически активных веществ); 2) понижая пороговый тургор (Y); 3) увеличивая растяжимость клеточных стенок ϕ и 4) увеличивая проницаемость клеток для воды L в тех случаях, когда она так мала, что лимитирует рост.

В литературе нет данных о понижении ауксинами осмотического потенциала клеток (хотя существует возможность, что действие гиббереллинов на рост частично определяется их влиянием на π). Очень немногочисленные данные свидетельствуют об увеличении под влиянием ауксинов проницаемости клеток стебля для воды, но в очень большом числе работ показано, что гормоны влияют на растяжение растительных клеток главным образом или исключительно благодаря изменению растяжимости клеточных стенок.

4.4.1. Свойства клеточной оболочки в связи с действием фитогормонов

Во время роста клеток, обусловленного вакуолизацией, происходит необратимое растяжение клеточной стенки. Следовательно, можно предположить, что вакуолизация является следствием размягчения клеточной стенки, что неизбежно приводит к усиленному поступлению воды в протопласт по причинам, рассмотренным в гл. 1 (с. 16). Многочисленные эксперименты показали, что ауксин увеличивает пластичность клеточной стенки. Об этом можно судить по увеличению степени пластической деформации обработанных ауксином органов растения под действием механического натяжения (рис. 4.6). Между влиянием различных концентраций ауксина на рост клеток растяжением и на пластичность клеточной стенки существует положительная корреляция (рис. 4.7). Это, по-видимому, говорит в пользу физиологического характера действия ауксина на пластичность клеточной стенки. Влияние других фитогормонов на растяжение клеточной стенки изучено несравнимо хуже, чем влияние аукси-

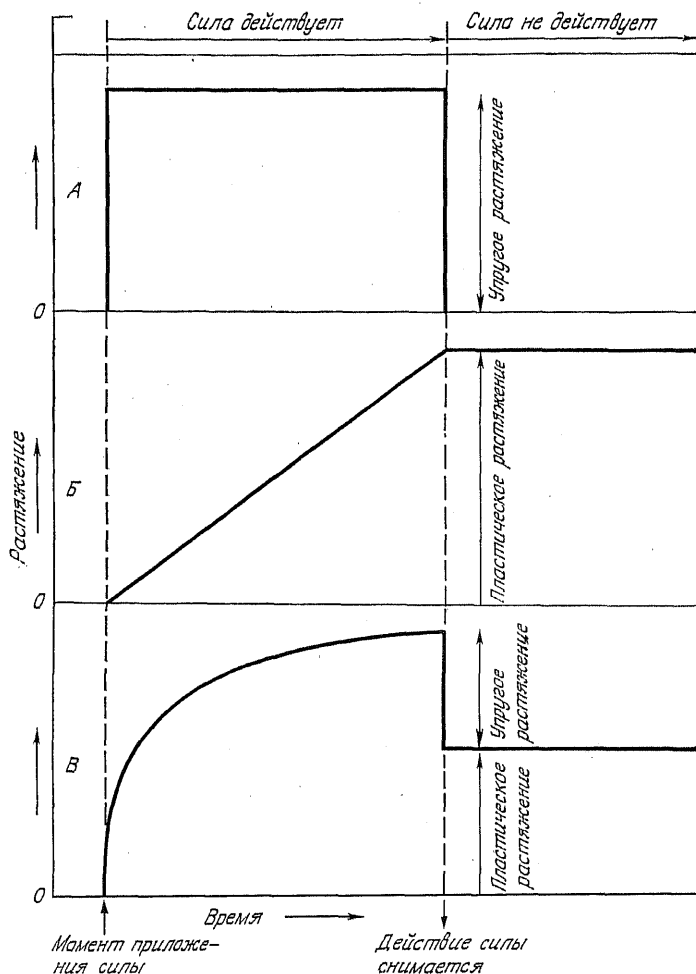


Рис. 4.6. Зависимость растяжения от времени для трех типов материалов с различными свойствами.

А. Эластичный материал, такой, как резина, между молекулами которого существуют многочисленные поперечные сшивки, почти мгновенно растягивается до максимума под действием силы, а после снятия действия силы, вызывающей растяжение, возвращается к своему исходному состоянию.

Б. Между молекулами имеются только немногочисленные поперечные сшивки или молекулы только слегка переплетены, как это наблюдается в пластмассах из полимеров с короткими цепями. В таких случаях происходит *необратимое* растяжение, прямо пропорциональное времени.

В. В случае таких материалов, как первичные стенки клеток растений, содержащих полимеры разной длины и в различной степени связанные друг с другом поперечными сшивками, растяжение носит промежуточный характер. Сначала происходит очень быстрое растяжение, а затем оно замедляется, но продолжается долго со скоростью, примерно пропорциональной логарифму времени. Зависящий от времени компонент такого растяжения называют «затуханием». На самом деле первый период быстрого растяжения — это то же

нов. Было показано, что активация растяжения гиббереллинами в большинстве исследованных случаев связана с увеличением пластичности стенки, но, по некоторым данным, гиббереллины могут также стимулировать рост клеток, понижая осмотический потенциал клеточного сока. Этилен обычно вызывает изодиаметрическое растяжение клеток, а не вытягивание их — другими словами, под действием этилена клетки не удлиняются, и, следовательно, стебель или другой орган утолщается, но мало растет в длину. Каким образом этилен индуцирует такое поперечное растяжение клеток, пока неясно, но известно, что при этом происходят изменения ориентации микрофибрилл целлюлозы и повышение активности целлюлазы.

При увеличении размеров клеток наблюдается не только растяжение клеточной стенки, но и ее утолщение за счет отложения нового материала (с. 17). Это утолщение клеточной стенки стимулируется ауксином и может происходить даже в условиях полного подавления роста клетки (например, при помещении тканей в гипертонический раствор маннита).

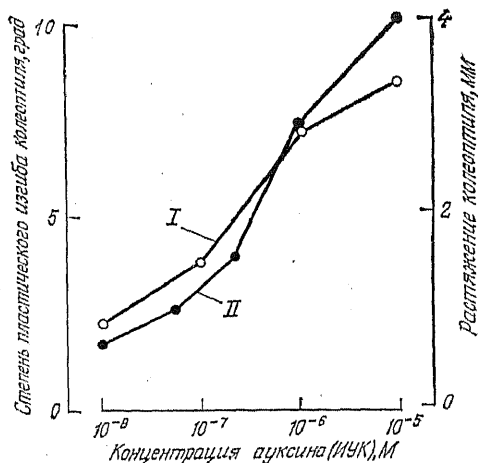


Рис. 4.7. Положительная корреляция между влиянием ауксина (ИУК) на пластичность клеточной стенки, измеренную по степени пластического изгиба (I), и на рост растяжением (II) coleoptily овса. (J. Bonner, Z. Schweiz, Forstv, 30, 141—159, 1960.)

самое затухание, которое, однако, происходит слишком быстро и потому не может быть измерено; принципиальной разницы между этими двумя фазами нет. Это растяжение может быть частично или полностью обратимо в зависимости от предобработки материала. Например, если механическая сила была приложена впервые, то после ее удаления тип восстановления таков, как это изображено для стенок растительных клеток на панели В рисунка. Можно видеть, что растяжение состоит из упругого и пластического компонентов. Обработка ауксином увеличивает пластический компонент общего растяжения. Последующие растяжения при условии, что максимальная длина, достигнутая при первом растяжении, не превышает, полностью упруги, и это изменение в поведении материала называют механической закалкой (кондиционированием). Однако обратите внимание на то, что проиллюстрированный на рис. В тип растяжения стенок растительных клеток применим только к мертвой ткани. Стенки живых клеток растягиваются путем серии таких растяжений, поэтому растяжение может продолжаться с постоянной скоростью довольно долго.

Данные, приведенные на рис. 4.6, показывают, что клеточным стенкам свойственно растяжение такого типа, при котором исходное быстрое растяжение сменяется все более медленным («затухание» растяжения). Однако *живые клетки* могут растягиваться с *постоянной скоростью* в течение продолжительных периодов, поэтому считают, что процесс роста включает серию растяжений, происходящих под действием тургорного давления клеточного сока. Интересно, что при обработке клеточных стенок живых тканей ауксином можно наблюдать ответную реакцию, изображенную на рис. 4.6, тогда как при действии ауксина на изолированный материал клеточных стенок такой реакции не наблюдается. Это наводит на мысль, что ауксин не действует непосредственно на клеточные стенки, а регулирует какие-то процессы в протопласте, приводящие к изменению свойств стенок. Что же это за процессы, на которые влияет ауксин? Для того чтобы понять это, необходимо кратко рассмотреть строение и физические свойства первичной клеточной стенки.

Как мы уже говорили в гл. 1, стенки молодых, растущих клеток состоят из переплетенных цепей микрофибрилл целлюлозы, заключенных в плотный матрикс из нецеллюлозных полисахаридов, относящихся к нескольким различным классам, и белка. Эти компоненты составляют около 20% веса стенки, а оставшиеся 80% приходятся на воду. В общем можно сказать, что клеточная стенка похожа на железобетонную конструкцию или на пластик со стекловолокном. Микрофибриллы целлюлозы создают прочность конструкции, а нецеллюлозный матрикс служит для стабилизации. Молекулы целлюлозы внутри микрофибрилл удерживаются вместе водородными связями, а компоненты матрикса — как полисахариды, так и белки — связаны ковалентно. Известно, что между микрофибриллами и матриксом, по крайней мере у двудольных, также существуют водородные связи и что в состав матрикса двудольных входит полисахарид ксилоглюкан (он, как и целлюлоза, имеет $\beta(1 \rightarrow 4)$ -глюкановый скелет, а в его боковых цепях очень часто встречаются ксилоза, а иногда галактоза, фруктоза и арабино-

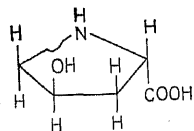


Рис. 4.8. Структура гидроксипролина.

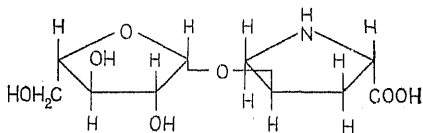


Рис. 4.9. Гликозидная связь между гидроксипролином и арабинозой. Каждый из остатков гидроксипролина в белке клеточной стенки связан таким образом с молекулой тетраарабинозы (т. е. четырех соединенных остатков арабинозы).

за; рис. 1.4). Белок клеточной стенки необычен в том отношении, что помимо аминокислот он содержит в большом количестве иминокислоту гидроксипролин (рис. 4.8). Каждый остаток гидроксипролина в белке связан гликозидной связью с цепью из четырех молекул арабинозы (тетраарабинозид), которая, однако, не соединена с остальным матриксом (рис. 4.9). Полисахариды матрикса, по-видимому, связаны с белком клеточной стенки через остатки серина.

Как и в случае упомянутых выше конструкций, изобретенных человеком, в клеточной стенке механические свойства определяются взаимодействиями между микрофибриллами и матриксом, а также взаимодействиями внутри каждого из этих компонентов.

4.4.2. Кинетика роста растяжением, индуцированного гормонами

Нам хорошо известно, что ауксины, а, возможно, также и другие гормоны роста, такие, как гиббереллины и этилен, могут изменять механические свойства стенок растительных клеток, однако до сих пор неизвестно, каким образом достигаются эти эффекты. Поскольку большая часть данных по связанным с ростом изменениям в клеточной стенке получена для ауксинов, в последующем изложении мы в основном и будем рассматривать рост, индуцированный этим гормоном.

В настоящее время известно, что хотя для роста клеток растяжением требуется длительный синтез белка и РНК (рис. 4.10), а также активное дыхание, тем не менее если ткани стебля или колеоптиля обрабатывать ауксином, то скорость роста увеличится после очень небольшого лаг-периода, всего лишь порядка нескольких минут (рис. 4.11). Поэтому кажется маловероятным, чтобы рост ускорялся благодаря изменениям в скорости транскрипции или трансляции. Скорее ауксин влияет на какую-то «предсуществующую» систему. Также хорошо установлено, что в ответ на действие ауксина происходят значительные изменения в полисахаридах клеточной стенки; и в самом деле трудно себе представить, чтобы без таких изменений могли измениться механические свойства клеточной стенки. Поскольку в данном случае происходят разрыв и образование новых ковалентных связей, очевидно, что в этих изменениях участвуют ферменты. Исследователи давно пытались выяснить, какие именно изменения происходят в полисахаридах клеточной стенки и коррелируют ли эти изменения с различиями в активности ферментов внутри стенки.

Эти попытки в общем не увенчались особым успехом главным образом потому, что точная структура полисахаридов матрикса клеточной стенки и характер их взаимосвязи неизвестны

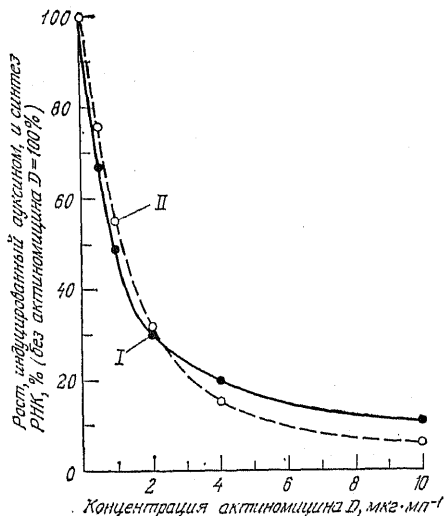


Рис. 4.10. Различные концентрации актиномицина D в равной мере подавляют индуцированный ауксином рост (I) и синтез РНК (II). Сегменты hypocotyls сои обрабатывали в течение 3 ч указанными концентрациями актиномицина D, а затем добавляли $5 \cdot 10^{-5}$ М 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д, ауксин). Синтез РНК измеряли по включению ^{14}C -АДФ в течение 4 ч роста. (J. L. Key et al., Ann. N. Y. Acad. Sci., 144, Art. 1, 49—62, 1967.)

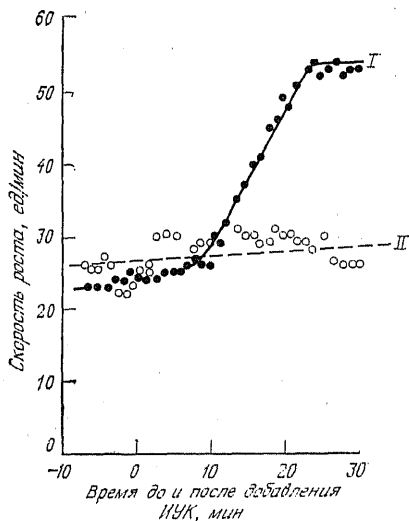


Рис. 4.11. Ответная реакция сегментов, изолированных из стеблей гороха, на введение 10^{-5} М ИУК. (P. Penny, New Zealand J. Bot., 7, 29—30, 1969.)

Показаны скорости растяжения двух групп сегментов. Можно видеть, что скорость роста сегментов, обработанных ИУК (I), возрастает спустя 10 мин после обработки. II — скорость роста без добавления ауксина.

и, таким образом, интерпретация полученных результатов представляется крайне сложной.

В ранних работах высказывались предположения о прямом влиянии ауксина на клеточную стенку, в частности на ионные мостики между входящими в ее состав полиуронидами («пектиновыми веществами») (рис. 4.12), но позднее такая точка зрения была пересмотрена. Тем не менее не так давно было обнаружено, что полиурониды, возможно связанные с клеточной стенкой, могут служить рецепторами для гиббереллинов при стимуляции последними роста растяжением hypocotyls салата-латука (см. с. 130).

В результате последующих работ мы получили более ясное представление о строении клеточной стенки, и вооруженные этими знаниями и некоторыми новыми экспериментальными методами, ученые выдвинули ряд новых гипотез. На характер этих гипотез оказало влияние еще одно новое открытие, а именно что

Механизмы действия фитогормонов

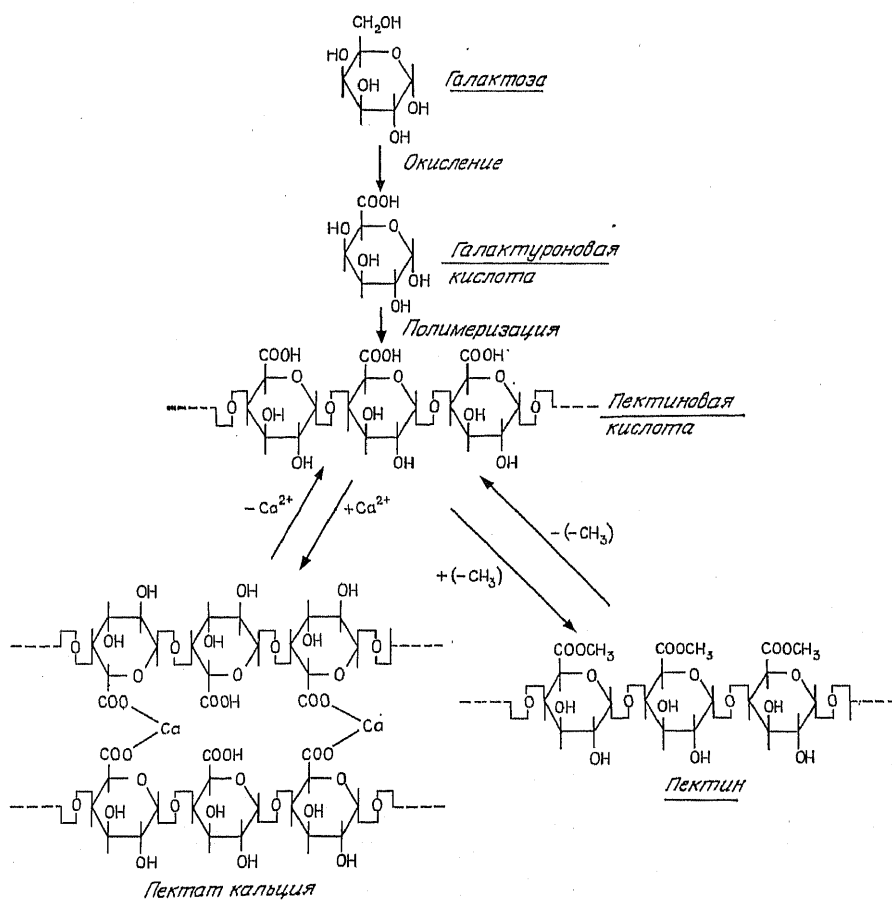


Рис. 4.12. Образование и взаимопревращение некоторых пектиновых веществ (полигалактуронидов) в стенках растительных клеток.

Обратите внимание на мостики из ионов Ca^{2+} , возникающие между соседними молекулами пектиновой кислоты (но не пектина), в результате чего образуется пектат кальция.

низкий pH (около 3,0) вызывает у инкубируемых колеоптилей или этилированных стеблей рост растяжением (так называемый «кислый» рост), который, по крайней мере в краткосрочных опытах, аналогичен росту, индуцируемому ауксином, но начинается без заметного лаг-периода. В ряде более поздних работ было показано, что ауксин вызывает выделение из тканей стебля или колеоптиля ионов H^+ (протонов), обуславливающих снижение pH клеточной стенки. Кинетика «кислого» роста очень похожа на кинетику роста, стимулированного ауксином. Эти дан-

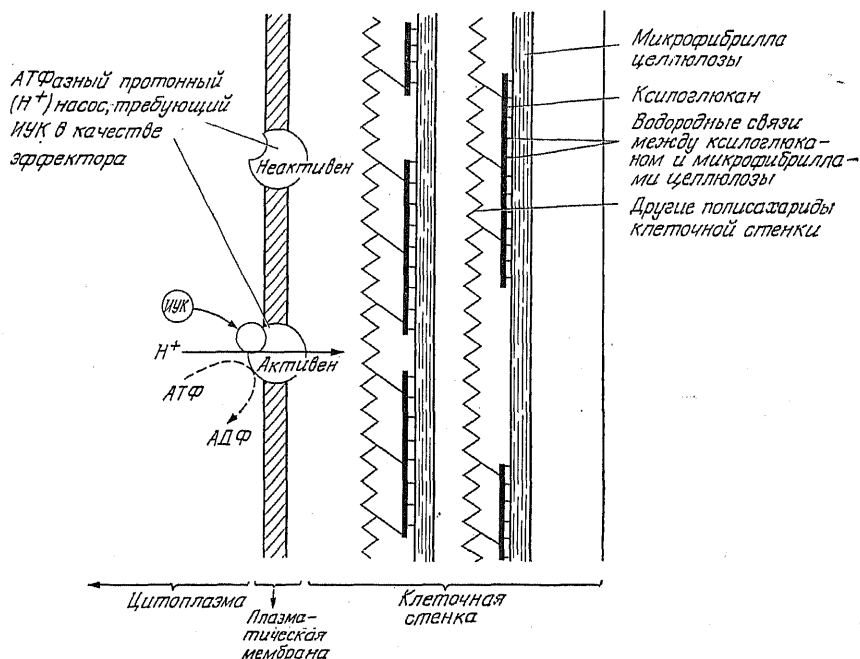


Рис. 4.13. Схема, иллюстрирующая гипотетическую модель влияния ауксина (ИУК) на связанный с мембраной протонный (H^+) насос. (По Р. J. Davis, The Botanical Review, 39, 139—171, 1973.)

Считается, что АТФаза, принимающая участие в выделении ионов H^+ из цитоплазмы в клеточную стенку, активна только в присутствии ИУК. Выделяющиеся ионы водорода могут разрушать водородные связи, связывающие полимеры ксиллоглюкана и микрофибриллы целлюлозы. Под влиянием тургорного давления ксиллоглюкан начинает скользить относительно микрофибрилл, в результате чего стенка растягивается, а клетка увеличивается в размерах.

ные, несомненно, объясняют, почему для роста необходимо дыхание, о чем мы говорили выше, поскольку и ионный насос, и разобщение зарядов характерны для этого процесса. По общему мнению, этот гипотетический чувствительный к ауксину протонный насос локализован в плазматической мембране (рис. 4.13).

Если мы примем, что активация протонного насоса лежит в основе увеличения скорости роста под влиянием ауксина, то возникают три новых вопроса: 1) Каким образом ауксин стимулирует выделение ионов H^+ ? 2) Почему для роста растяжением необходим синтез РНК и белка? 3) Как изменяющийся рН клеточной оболочки влияет на ее свойства?

На первый вопрос ответа пока нет, и для его решения необходимо еще много работать. Что касается синтеза РНК и белка, то проблема становится ясной, если различать инициацию

ускоренного роста и его *продолжение* после того, как он уже начался. Так, хотя мы не имеем вполне определенных данных, свидетельствующих о зависимости инициации роста от синтеза РНК и белка, все же *непрерывность нормального* клеточного роста предполагает не только изменение механических свойств клеточной стенки, но и синтез нового материала для ее построения. Это очевидно, так как клеточная стенка не истончается по мере ее растяжения, а для этого необходимо непрерывное снабжение биосинтетическими и гидролитическими ферментами, что в свою очередь требует синтеза как РНК, так и белка. Действительно, обработка ауксином приводит к увеличению количества и/или активности таких ферментов, например синтетазы целлюлозы, хотя это и происходит немного позже начала активации роста. При ингибировании роста даже в присутствии ауксина такие изменения, как правило, не происходят.

На третий вопрос пока нет определенного ответа, но ясно, что ионы H^+ могут действовать двояко, а именно: путем непосредственного разрушения чувствительных к кислотности связей или путем создания более благоприятных условий для различных ферментов, обуславливающих модификацию клеточной стенки, например приближая рН стенки к оптимальному для работы какого-либо ключевого фермента(ов). Если речь идет о ферментативном процессе, то важную роль у двудольных может играть ксилоглюкан матрикса, так как было показано, что ауксин влияет на скорость обновления ксилоглюкана в большей степени, чем на скорость обновления других полисахаридов, т. е. под действием ауксина ускоряется как распад, так и синтез ксилоглюкана. Кроме того, эта ответная реакция на обработку ауксином возникает очень быстро и может быть также вызвана снижением рН клеточной стенки. Как мы уже говорили, ксилоглюкан, очевидно, взаимодействует с микрофибриллами клеточной стенки и от этого взаимодействия, вероятно, зависят свойства стенки. В настоящее время проводится активная работа по идентификации фермента(ов), катализирующего это ускоренное обновление ксилоглюкана. Следует подчеркнуть, что данная гипотеза пригодна только для двудольных. В матриксе однодольных не содержится ксилоглюканов, и в этом случае должен быть предложен другой механизм.

Заметим теперь, что, рассматривая механизм действия фитогормонов (главным образом ауксинов) на увеличение размеров клеток, мы до сих пор касались исключительно краткосрочных или сравнительно краткосрочных эффектов. Это отражает направленность исследований, проводимых в прошедшее десятилетие. Ученые полагали, что для того чтобы понять роль ауксина в стимуляции роста, логично изучать те процессы, которые протекают во время лаг-периода (см. рис. 4.11). Однако как и всегда в процессе развития при росте клеток растяжением про-

исходят изменения в содержании белков и активности ферментов. В многочисленных экспериментах было показано, что между ростом, в частности ростом, индуцируемым ауксином или другим фитогормоном, и синтезом РНК существует положительная корреляция. В значительной части таких экспериментов использовали различные ингибиторы белкового синтеза (например, актиномицин D, блокирующий ДНК-зависимый синтез РНК, или циклогексимид, который влияет на уровне трансляции, подавляя сборку белков на рибосомах). Например, из рис. 4.10 видно, что актиномицин D подавляет способность экзогенного ауксина ускорять рост клеток растяжением в такой же степени, в какой он подавляет синтез РНК.

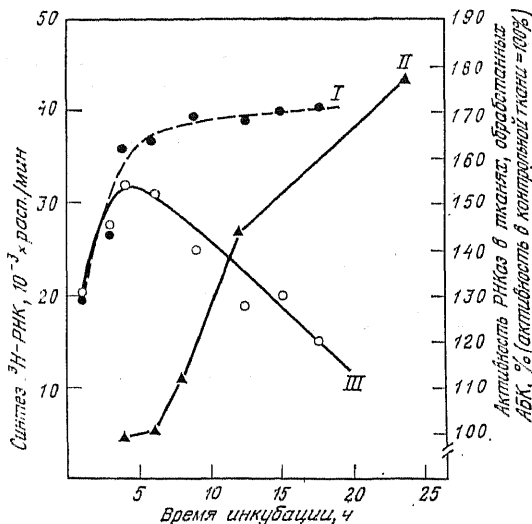
Несомненно, что для нормального длительного роста растяжением необходим непрерывный синтез белка, даже если краткосрочные (с лаг-периодом порядка 10 мин или меньше) ростовые ответы на гормон наблюдаются и без синтеза новых РНК и белков. В случае регуляции роста растяжением ауксином очевидно, что при быстром ростовом ответе происходит выделение H^+ в оболочку, а снижение рН или непосредственно ослабляет какие-то межмолекулярные связи, или благоприятствует активности определенных ферментов, разрыхляющих оболочку.

Влияние других гормонов на увеличение размеров клеток пока не изучено так подробно, как влияние ауксинов. Латентный период для стимуляции роста клеток гиббереллинами, по-видимому, значительно длиннее (не менее 30 мин по сравнению с 10 мин для ауксина), и еще не вполне ясно, происходит ли при этом выделение H^+ растущими клетками. Вместе с тем этилен изменяет скорость роста менее чем за 5 мин после помещения тканей в его атмосферу.

Кинетика подавления роста абсцизовой кислотой (АБК) не была изучена так тщательно, как кинетика активации роста ауксинами. Известно, что ауксинзависимое вытягивание колеоптилей подавляется уже через несколько минут после добавления АБК, а закрывание устьиц в ответ на введение АБК (см. гл. 5) наблюдается менее чем через минуту. Такие быстрые изменения, происходящие под влиянием АБК, свидетельствуют о том, что по крайней мере некоторые ее регуляторные эффекты не зависят от синтеза белков и нуклеиновых кислот. Однако при более длительном ингибировании роста АБК подавляет синтез белка. Было высказано несколько различных предположений о механизме подавления синтеза белка абсцизовой кислотой. Обнаружение того факта, что АБК активирует рибонуклеазу (РНКазу), позволило предположить, что именно таким способом АБК уменьшает содержание РНК, следствием чего является снижение интенсивности синтеза белка и скорости роста. Однако в некоторых последующих работах было показано, что АБК может подавить общий синтез РНК в колеоптилях быстрее чем

Рис. 4.14. Зависимость от времени действия АБК ($3,8 \cdot 10^{-5}$ М) на синтез суммарной РНК (включение ^3H -цитидина, расп./мин на 1 г сырого веса ткани) и на активность РНКаз в клетках coleoptилей *Zea mays*. (J. H. M. Vex, *Planta*, 103, 1—10, 1972.)

I — синтез РНК в контроле; II — активность РНКаз при обработке АБК; III — синтез РНК при обработке АБК.



за 3 ч, а активность РНКазы повышается только спустя 8 ч (рис. 4.14). Следовательно, первичное влияние АБК на рост клеток достигается не за счет увеличения количества или активности РНКазы. Позже в этой главе (с. 152) мы вернемся к обсуждению механизма подавления синтеза РНК и белка в некоторых тканях при воздействии на них АБК.

Итак, механизмы, лежащие в основе роста клеток растений растяжением, постепенно выясняются, и роль ауксина в этом процессе становится более понятной. Однако не следует забывать, что, хотя увеличение размера клеток во многих отношениях является наиболее характерной ответной реакцией на действие ауксинов, эта реакция не единственная и, очевидно, даже не всегда первая. Так, ауксин может индуцировать быстрое увеличение интенсивности дыхания и скорости движения протоплазмы. Кроме того, ряд ответных реакций на действие ауксина не связан с немедленной вакуолизацией клеток (например, деление клеток камбия, образование корней, коррелятивное ингибирование пазушных почек). Другими словами, хотя ауксин может вызывать быстрое разрыхление клеточной стенки, это отнюдь не единственный способ его действия.

Наконец, еще один важный аспект гормонального контроля роста растяжением — это влияние, которое оказывают гормоны на биосинтез клеточной стенки. Совершенно очевидно, что стимуляция роста таким гормоном, как ауксин, сопровождается не только разрыхлением стенки, но и активацией ее образования, поскольку в период клеточного роста толщина стенки остается постоянной. Пока неясно, как осуществляется это влияние, одна-

ко известно, что при отложении нового материала клеточной стенки важную роль играют микротрубочки, и имеются сообщения о влиянии гормонов на ориентацию этих микротрубочек. Ориентация микротрубочек в примыкающем к плазмалемме слое цитоплазмы (см. рис. 1.6), по-видимому, определяет ориентацию микрофибрилл целлюлозы, включающихся в состав клеточной стенки, а ориентация микрофибрилл определяет *направление*, в котором легче всего может растягиваться оболочка.

4.5. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФИТОГОРМОНОВ НА ДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК

Фитогормоны могут регулировать деление растительных клеток, и в этом разделе мы обсудим некоторые способы такой регуляции. Поскольку митоз обычно связан с репликацией ДНК, внимание исследователей было привлечено к проблеме влияния фитогормонов на метаболизм ДНК. Однако регуляция клеточного деления может, несомненно, осуществляться и на других стадиях клеточного цикла, после репликации ДНК. Имеются данные, что по крайней мере иногда фитогормоны регулируют деление через их влияние на митоз, а не на синтез ДНК.

Первые исследования, прямой задачей которых было изучить влияние фитогормонов на синтез ДНК и клеточное деление, были проведены в 50-е годы Скугом и его сотрудниками на стерильной культуре паренхимы из сердцевинки табака. Они обнаружили, что как для синтеза ДНК, так и для митоза необходим ауксин, но что митоз и цитокинез происходят только в присутствии помимо ауксина определенного количества цитокинина. Таким образом, эти первые работы показали, что ауксин может стимулировать синтез ДНК, но совсем не обязательно это приводит к митозу и цитокинезу. Митоз и цитокинез, очевидно, регулируются цитокинином. Эти выводы были впоследствии неоднократно подтверждены другими исследователями. Однако до сих пор мало известно о механизме стимуляции ауксином синтеза ДНК, хотя имеются сведения, что гормон может регулировать активность ДНК-полимеразы. Итак, в процессе синтеза ДНК ауксины, по-видимому, играют роль пермиссивного фактора, тогда как цитокинину, согласно мнению большинства исследователей, принадлежит роль стимулятора (но не регулятора). Вместе с тем несомненно, что цитокинины оказывают определенное действие на митоз и цитокинез, очевидно, влияя на синтез или активацию специфических белков, необходимых для митоза.

Отличительной чертой цитокининов является то, что все известные природные соединения этого класса гормонов — производные пуринов. Со времени открытия цитокининов их очевидное химическое родство с нуклеиновыми кислотами побуждает

исследователей склоняться к мысли о том, что их действие каким-то образом осуществляется через влияние на метаболизм нуклеиновых кислот и синтез белка. Однако до сих пор мы не можем нарисовать ясную картину этого действия, хотя подобно ауксинам и гиббереллинам цитокинины, несомненно, обладают способностью стимулировать синтез РНК и белка в клетках растений. По данным одних исследователей, обработка цитокинином приводит к накоплению всех фракций РНК (мРНК, рРНК и тРНК), по данным других — только к накоплению рРНК.

С середины 60-х годов, после обнаружения цитокининов в некоторых классах тРНК, интерес исследователей сконцентрировался на том, что цитокинины, возможно, осуществляют свое гормональное влияние посредством модификации специфических тРНК. В сериновой тРНК и тирозиновой тРНК содержатся остатки аденина с боковыми цепями, являющимися изомерами боковых цепей наиболее активных в гормональном отношении цитокининов. Кроме того, было показано, что такие модифицированные остатки аденина всегда непосредственно примыкают к антикодону тРНК (рис. 4.15). Понятно, что 6-замещенный пурин (все природные цитокинины имеют именно такое химиче-

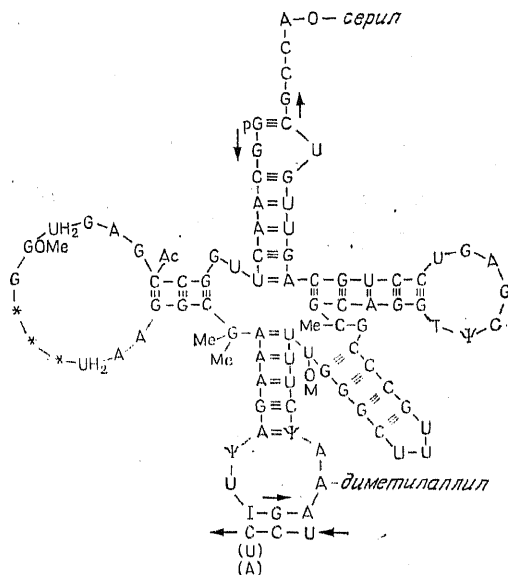


Рис. 4.15. Формула сериновой тРНК (выделенной из клеток дрожжей). (Н. G. Zachau et al., Angew. Chem., 78, 392, 1966.)

Показано, что цитокинин (диметилаллиладенин) расположен рядом с антикодоном. А — аденин; С — цитозин; G — гуанин; Т — тимин; U — урацил.

ское строение), примыкающий к антикодоновой петле, может поддерживать правильную пространственную организацию тРНК и, таким образом, препятствовать неправильному считыванию кодонов мРНК. Другими словами, кажется вероятным, что присутствие в тРНК молекулы цитокининового типа важно для нормального взаимодействия кодон — антикодон между мРНК и тРНК на рибосоме. Поэтому гипотеза о регулировании цитокининами трансляции через функционирование тРНК стала очень привлекательной.

Однако в последнее время эта гипотеза была подвергнута жесткой критике на основании ряда фактов. Так, при нормальном биосинтезе тРНК модификация входящих в ее состав оснований, по-видимому, происходит после установления первичной структуры полинуклеотида. Это означает, что характерные для цитокининов боковые цепи присоединяются к 6-му углеродному атому аденина *после* включения аденина в состав тРНК. Это делает невозможным включение в тРНК интактных молекул таких соединений, как кинетин, зеатин и т. п. Другие данные, опровергающие представление о том, что цитокинины действуют через их включение в состав тРНК, состоят в том, что в тРНК из семян *Zea mays* содержится *цис*-зеатин, тогда как природным цитокинином в тех же семенах является *транс*-зеатин. В связи с этим трудно представить себе, чтобы цитокинин мог служить предшественником при синтезе тРНК. Особенно убедительные данные против гипотезы о действии цитокининов через посредство тРНК были получены при изучении скоростей включения цитокининов, меченных радиоактивной меткой, в тРНК у чувствительных к гормону клеток. Опубликованные по этому вопросу результаты довольно противоречивы, но в общем было обнаружено, что в тРНК включается слишком мало цитокининов, чтобы рассматривать этот процесс как основу их регуляторного действия. Более того, [¹⁴C]-6-бензиламино-9-метилпурин, будучи активным цитокинином, совсем не может включаться в тРНК из-за блокирования метильной группой 9-го атома углерода.

Сведения о влиянии на синтез ДНК и клеточное деление других фитогормонов, кроме ауксинов и цитокининов, встречаются довольно редко. Имеются сообщения об увеличении содержания ДНК и повышении скорости клеточного деления в некоторых органах и тканях растений под влиянием гиббереллинов, но из этих данных нельзя сделать вполне определенных выводов, так как не ясно, идет ли в данном случае речь о прямых или косвенных эффектах.

Обработка некоторых растений или их тканей абсцизовой кислотой приводит к снижению скоростей синтеза ДНК и клеточного деления, но совершенно очевидно, что это косвенное

следствие влияния гормона на какие-то другие стороны метаболизма клетки.

Этилен может стимулировать или ингибировать рост клеток, и параллельно с этим он часто влияет на синтез ДНК и клеточное деление. Например, этилен стимулирует увеличение стебля в толщину, эпинастию листьев, закрывание верхушечной петли и прорастание семян. Подавление роста этиленом происходит при ингибировании развития некоторых почек, листьев и апикальных меристем. При всяком подавлении роста этиленом он заметно снижает скорость клеточного деления и синтеза ДНК. Однако неизвестно, являются ли эти изменения в синтезе ДНК причиной или следствием подавления роста этиленом. Для решения этого вопроса требуются детальные кинетические исследования. Было высказано предположение, что этилен регулирует клеточное деление, влияя на микротрубочки митотического веретена. Для такого предположения имеются некоторые основания, поскольку известно, что при изодиаметрическом увеличении клеток под влиянием этилена происходят изменения в расположении периферических микротрубочек этих клеток (см. с. 22).

4.6. ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ, ПРОВЕДЕННЫЕ НА ИЗОЛИРОВАННЫХ ТКАНЯХ И БЕСКЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМАХ

До сих пор мы говорили о механизме действия фитогормонов на развитие, основываясь главным образом на результатах, полученных на целых растениях или изолированных органах растений. В этих случаях экспериментатор имеет дело с интегрированными системами разных тканей, клетки каждой из которых, по-видимому, не одинаково реагируют на гормон, что осложняет анализ полученных результатов. В связи с этим становится очевидным теоретическое преимущество изучения влияния гормона на какую-либо одну ткань, состоящую из клеток, одинаково реагирующих на гормон. До сих пор лучшей системой такого типа является система, полученная из злаков. Это алевроновый слой ячменя. Следующий шаг в направлении упрощения системы для изучения механизма действия гормонов — переход к работе с бесклеточными системами (т. е. добавление гормона *in vitro* к различным компонентам клеток после их гомогенизации и фракционирования). Таковы некоторые работы по влиянию гормонов на транскрипцию и трансляцию, которые мы рассмотрим ниже, в разд. 4.6.2. Однако не следует забывать, что прямое изучение связывания гормонов с их предполагаемыми рецепторами (см. разд. 4.3) также служит примером исследования бесклеточной экспериментальной системы.

4.6.1. Система из алейронового слоя злаков

Алейроновым слоем называют периферический слой клеток, содержащих большое количество белка и расположенных вокруг эндосперма семян злаков. Эта ткань очень активна при прорастании и на ранних стадиях роста проростков, а затем быстро дегенерирует и отмирает. До прорастания алейроновый слой служит запасающей тканью, а при прорастании он является источником ряда гидролитических ферментов, секретируемых в эндосперм и участвующих в мобилизации его запасных веществ. Таким образом, алейроновый слой представляет собой однородную ткань, состоящую из одинаковых клеток, запрограммированных на выполнение небольшого числа функций на ранних этапах жизни растения. После набухания семян, вышедших из состояния покоя, клетки алейронового слоя выполняют свои функции при условии получения ими соответствующих гормональных сигналов. Основным гормоном, регулирующим метаболизм алейронового слоя у семян ячменя, является гиббереллин, поступающий из прорастающего зародыша. Однако он, очевидно, вступает в сложное взаимодействие с абсцизовой кислотой и, возможно, с этиленом. Подавляющее большинство экспериментов было проведено на алейроновом слое семян ячменя, но такая же ситуация типична и для семян других злаков. Исключение составляют семена пшеницы, у которых в регуляции начала гидролиза принимают участие также ауксины и цитокинины.

Важность гиббереллинов из зародышей для активации функций алейронового слоя была впервые продемонстрирована в начале 60-х годов, когда обнаружили, что в набухших зернах ячменя с удаленными зародышами не происходит активации гидролитических ферментов и, следовательно, мобилизации запасных веществ эндосперма. Опыты, проведенные сначала с половинками семян, лишенными зародышей, а затем с изолированным алейроновым слоем, показали, что обработка ГАЗ вызывает усиление амилолитической активности ферментов, приводящей к накоплению восстановленных сахаров из крахмала эндосперма. Таким образом, гиббереллин может заменить зародыш. Крахмал является главным запасным веществом эндосперма злаков, а основной эффект обработки клеток алейронового слоя гиббереллинами сводится к их действию на фермент амилазу. α -Амилаза не содержится в сухих, ненабухших семенах ячменя, но появляется в алейроновом слое в ответ на действие гиббереллинов и выделяется из его клеток. Обработка гиббереллинами активирует также ряд других ферментов, которые образуются или активируются в клетках алейронового слоя, но затем выделяются и оказывают свое гидролитическое действие вне протопластов этих клеток. Часть выделенных ферментов

работает в клетках эндосперма (α -амилаза, β -амилаза, протеаза, рибонуклеаза, пероксидазы), тогда как активность других направлена на разрушение стенок клеток алейронового слоя, которое происходит при прорастании ($\beta(1\rightarrow3)$ -глюканаза, α -ксиланаза, β -ксилопириназидаза и α -арабинофуранозидаза). Разрушение клеточных стенок алейронового слоя способствует выходу из них ферментов, гидролизующих запасные вещества эндосперма. Действие гиббереллина на активность этих ферментов может осуществляться несколькими путями: 1) стимуляцией их синтеза, 2) влиянием на их выделение из клеток алейронового слоя и 3) активацией ферментов. В некоторых случаях гиббереллин стимулирует как синтез, так и выделение фермента (например, α -амилазы и протеазы), тогда как в других случаях он влияет только на выделение фермента (например, β -амилазы, $\beta(1\rightarrow3)$ -глюканазы и рибонуклеазы).

Из ферментов алейронового слоя наиболее изученным в связи с механизмом действия гиббереллина является α -амилаза, особенно α -амилаза ячменя, однако ферментные системы из семян пшеницы и риса ведут себя аналогичным образом. Имеются весьма достоверные данные о том, что гиббереллины (обычно в опытах использовали GA_3) вызывают *de novo* синтез α -амилазы в клетках алейронового слоя. В 1967 г. Филнер и Варнер показали, что *вся* α -амилаза, образуемая в ответ на обработку GA_3 , синтезируется *de novo* из аминокислот. Эти авторы использовали методику *плотностного мечения* тяжелой водой. Алейроновые слои ячменя инкубировали с GA_3 в присутствии нормальной воды (H_2^{16}O) или воды, содержащей тяжелый изотоп кислорода (H_2^{18}O). В результате естественный гидролиз запасных белков клеток алейронового слоя протеазами происходил в присутствии либо H_2^{16}O , либо H_2^{18}O и образующиеся при этом аминокислоты содержали соответственно либо ^{16}O , либо ^{18}O . О таких, содержащих тяжелый изотоп аминокислотах говорят, что они мечены по плотности и синтезирующиеся из них белки также будут мечеными по плотности (они будут тяжелее, т. е. обладать большей плотностью, чем белки, образовавшиеся из аминокислот, содержащих ^{16}O). Подвергнув экстракты ферментов ультрацентрифугированию, Филнер и Варнер обнаружили, что α -амилаза, синтезированная в клетках алейронового слоя, обработанного GA_3 в присутствии H_2^{18}O , была в соответствии с теоретическими подсчетами на 1% плотнее, чем α -амилаза из клеток алейронового слоя, инкубированного с H_2^{16}O (рис. 4.16). Следовательно, при инкубации с H_2^{18}O *вся* индуцированная α -амилаза была синтезирована заново из аминокислот. Позднее с помощью такой же методики (правда, чаще вместо H_2^{18}O использовали D_2O) было показано, что четыре изофермента α -амилазы, а также рибонуклеаза и $\beta(1\rightarrow3)$ -глюканаза синтезируются *de novo* в ответ на обработку GA_3 .

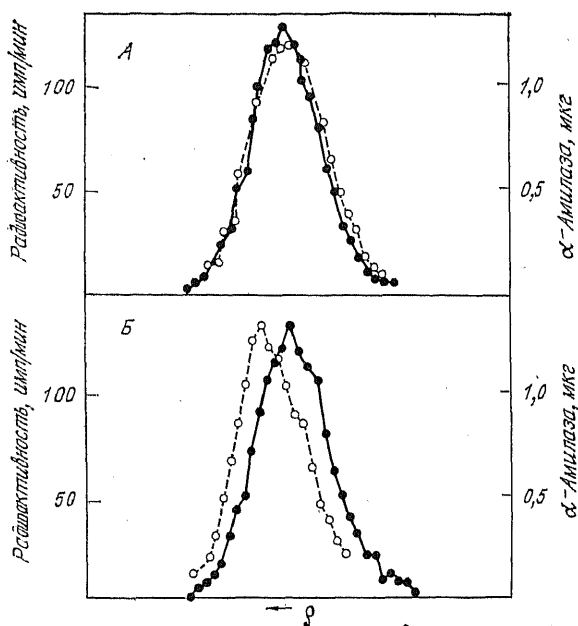


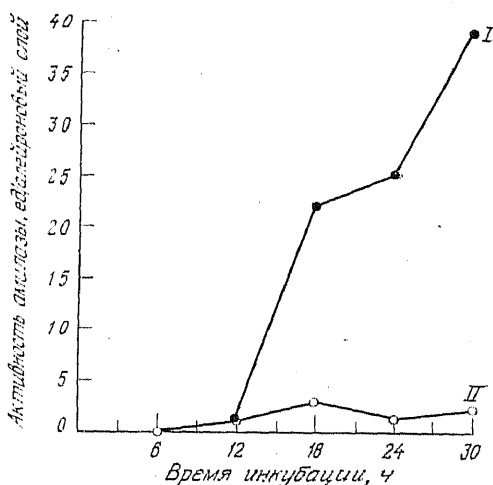
Рис. 4.16. Результаты опытов по использованию плотностной метки, показывающие, что все молекулы α -амилазы в обработанных гиббереллином клетках алейронового слоя ячменя синтезируются *de novo* из аминокислот. (P. Filner, J. Varner, Proc. Natl. Acad. Sci., 58, 1520—1526, 1967.)

На графиках представлено распределение α -амилазы в градиенте плотности CsCl (ρ — плотность). А. Совпадение плотностей α -амилазы, образованной в присутствии H_2^{16}O (светлые кружки), и меченной по тритию (^3H) маркерной α -амилазы (черные кружки). Б. Большая плотность α -амилазы, синтезированной в присутствии H_2^{18}O (светлые кружки), в сравнении с маркерной α -амилазой нормальной плотности (черные кружки).

Индукция GA_3 синтеза фермента *de novo* позволяет предположить, что механизм действия гиббереллина связан с прямой регуляцией экспрессии генов и образования мРНК, необходимых для синтеза фермента(ов). Весьма важно, что синтез α -амилазы можно обнаружить лишь после лаг-периода, который длится не менее 8 ч начиная с момента добавления GA_3 (см., например, рис. 4.17). Кроме того, GA_3 должна постоянно присутствовать в системе как во время лаг-периода, так и в последующий период синтеза α -амилазы (рис. 4.18), иначе этот синтез прекращается. Если к клеткам алейронового слоя, инкубируемым с GA_3 , во время лаг-периода добавить актиномицин D (ингибитор синтеза РНК), то он подавляет синтез α -амилазы, причем, чем позже во время лаг-периода добавлять актиномицин D, тем меньшее влияние он окажет. Если актиномицин D добавить после лаг-периода, то он не окажет никакого действия на синтез α -амилазы или же его эффект будет минимален. Все

Рис. 4.17. Зависимость от времени высвобождения фермента (α -амилазы) из изолированных алейроновых слоев ячменя, инкубируемых на среде, содержащей 10^{-6} М GA_3 (I), или на контрольной среде без гиббереллина (II). (K. M. Bailey, I. D. J. Phillips, D. Pitt, J. Exp. Bot., 27, 324—326, 1976.)

Только через 8—12 ч проявлялось стимулирующее влияние гиббереллина и в среде появлялись измеримые количества фермента.

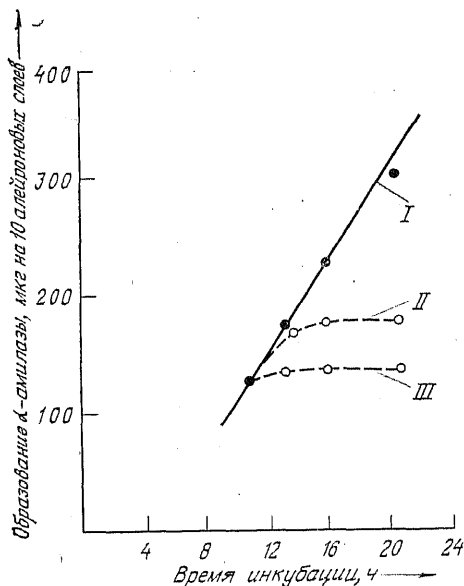


это говорит о том, что для индукции гиббереллином α -амилазы необходим синтез РНК во время лаг-периода и что после его окончания синтез α -амилазы может продолжаться на ранее синтезированной матричной РНК (т. е. мРНК для α -амилазы, очевидно, долгоживущая). Такие ингибиторы синтеза белка на рибосомах, как циклогексимид, а также абсцизовая кислота продолжают ингибировать образование α -амилазы и по окончании лаг-периода (рис. 4.19). В некоторых опытах было показано, что синтез долгоживущей мРНК для индуцированной GA_3 α -амилазы составляет всего около 1% от общего синтеза РНК.

Итак, результаты работ на алейроновом слое убедительно показали, что гиббереллин стимулирует синтез новой мРНК, необходимой для образования α -амилазы. Этот вывод в дальнейшем был подтвержден результатами, полученными в экспериментах на бесклеточной системе синтеза белка, в которой в качестве матрицы для синтеза α -амилазы использовалась мРНК, выделенная из алейронового слоя ячменя (с. 156). Представляется также вероятным, хотя это и не столь строго документировано, что при индукции гиббереллином синтеза de novo ряда других ферментов в клетках алейронового слоя тоже синтезируются соответствующие виды мРНК. Однако такого рода данные не дают ответа на вопрос, действует ли гиббереллин непосредственно на процесс транскрипции или его действие опосредовано влиянием на какие-то другие процессы в клетке. Ясно только одно, что гиббереллин в клетках алейронового слоя не является ни прямой, ни косвенной причиной избирательной активации генов для синтеза ферментов. Ответная реакция клеток алейронового слоя на гиббереллин качественно предопределена, т. е. эти клетки выполняют в процессе

Рис. 4.18. Влияние удаления и вторичного добавления гиббереллина (GA_3) к алейроновым слоям ячменя на синтез в них α -амилазы. (M. J. Chrispeels, J. E. Varner, Plant Physiol., 42, 1008—1016, 1967.)

Весь материал в течение 9 ч (лаг-период до начала образования α -амилазы) находился в растворе GA_3 (I), а затем одну партию образцов оставляли на GA_3 , а две другие отмывали от GA_3 в течение 9 ч (III). К одной партии отмывших алейроновых слоев через 15 ч от начала опыта снова добавляли GA_3 (II). Видно, что для поддержания синтеза α -амилазы гиббереллин должен присутствовать постоянно даже после окончания лаг-периода.



развития те функции, которые были запрограммированы для них как для клеток алейронового слоя в ходе созревания семян. Гиббереллин из прорастающего зародыша необходим только для того, чтобы запустить последовательность процессов образования ферментов, их активацию и выделение, но сам по себе гормон не определяет ход событий.

Помимо того что клетки алейронового слоя заранее запрограммированы и поэтому отвечают на GA_3 определенным образом, хорошо установлено, что алейроновая система не является системой «один гормон — один фермент». Мы уже видели, что GA_3 влияет на активность и синтез многих ферментов, а не только на активность и синтез α -амилазы. Вместе с тем в регуляции синтеза α -амилазы, по-видимому, участвуют и другие фитогормоны. Так, АБК подавляет синтез α -амилазы, индуцированный GA_3 (рис. 4.19), хотя мало влияет на общую скорость синтеза белка и только слегка подавляет синтез РНК. Это действие АБК представляется крайне специфичным, так как она не влияет на активность некоторых других ферментов, даже когда активность α -амилазы почти полностью подавлена, однако каким образом АБК оказывает свое действие на клетки алейронового слоя, пока неясно. Цитокинины сами по себе не влияют на образование α -амилазы в алейроновом слое, но могут снимать ингибирующее действие абсцизовой кислоты на синтез этого фермента, индуцированного GA_3 . Этилен не оказывает никакого влияния на синтез α -амилазы, но может стимулировать высвобождение фермента из клеток алейронового слоя, а также час-

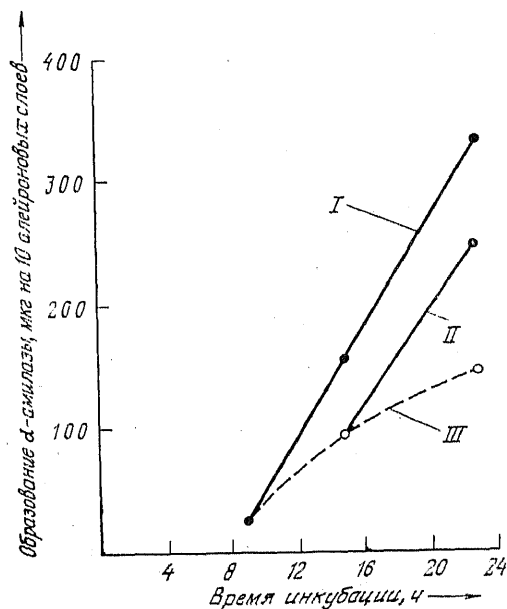


Рис. 4.19. Подавление синтеза α-амилазы в тканях алейронового слоя ячменя ингибитором синтеза белка циклогексимидом и фитогормоном абсцизовой кислотой (АБК). (М. J. Chrispeels, J. E. Varner, Plant Physiol., 42, 1008—1016, 1967.) Циклогексимид (III) или АБК (II) были добавлены через 11 ч инкубации. Контрольные образцы (I) обрабатывали только ГАЗ.

точно снимать ингибирующее действие АБК. Таким образом, клетки алейронового слоя чувствительны ко всем известным фитогормонам, которые сами по себе или в сочетании с другими гормонами регулируют ход синтеза, активации и выделения гидролитических ферментов.

Хотя большинство авторов, исследовавших механизм действия гормонов (в частности, гиббереллина) в алейроновой системе, связывают их действие с синтезом РНК и белка, теперь известно, что ГАЗ повышает активность α-амилазы в клетках алейронового слоя ячменя *раньше*, чем начинается активация синтеза РНК. Поэтому можно думать, что *сначала* в клетках алейронового слоя происходит высвобождение уже синтезированного фермента, и только после этого становится важной стимуляция ГАЗ синтеза α-амилазы. И действительно, в настоящее время многие считают, что в первую очередь гиббереллины в алейроновой системе из ячменя влияют на различные уже существующие в клетках мембраны. Влияние гиббереллина на мембраны клеток алейронового слоя состоит из 1) активации синтеза мембран (особенно гранулярного эндоплазматического ретикулула), 2) стимуляции образования из эндоплазматического ретикулула микротелец и пузырьков, содержащих гидролитические ферменты и 3) стимуляции выделения α-амилазы через плазматическую мембрану.

Все эти наблюдения, вместе взятые, показывают, что синтез гидролитических ферментов в клетках алейронового слоя в от-

сутствие гиббереллина лимитируется не доступностью мРНК, а количеством соответствующих мембран, к которым должны прикрепиться полисомы, несущие специфические для гидролаз мРНК. Кажется вероятным, что по крайней мере часть эффектов гиббереллина осуществляется на уровне мембран и эти эффекты предшествуют стимуляции синтеза РНК и белка. Например, синтез одного из важнейших фосфолипидов клеточных мембран лецитина активируется уже в пределах 2 ч после обработки клеток алейронового слоя ГАЗ. Таким образом, возможно, что гиббереллин регулирует общий синтез мембран *de novo* и особенно формирование гранулярного эндоплазматического ретикулума, и этот этап является необходимым условием синтеза гидролитических ферментов.

Сейчас, вероятно, уместно напомнить, что алейроновый слой, по крайней мере на первый взгляд, является одной из самых простых систем, использованных для изучения механизма действия гормонов в растении. Однако и здесь ответные реакции на гормон оказались такими сложными и многообразными, что пока невозможно определенно сказать, какая из них представляет собой истинный механизм действия гиббереллина.

4.6.2. Влияние фитогормонов на транскрипцию и трансляцию *in vitro* (в бесклеточных системах)

Как мы уже знаем, стимуляция роста или синтеза ферментов в таких системах, как алейроновый слой, связана с активацией синтеза белка (и обычно РНК). С целью выяснения, влияют ли фитогормоны на экспрессию или активность генов, были проведены многочисленные исследования с использованием бесклеточных (*in vitro*) систем транскрипции (в изолированном хроматине и ядрах) и трансляции продуктов транскрипции. В такого рода системах изолированный материал инкубируют с мечеными предшественниками РНК (АТФ, ЦТФ, ГТФ и УТФ). О синтезе РНК в таком случае можно судить по включению в нее радиоактивности. Трансляцию синтезированной РНК можно оценить *in vitro*, используя бесклеточные системы синтеза белка.

Совершенно очевидно, что обработка ауксинами увеличивает способность изолированных ядер и препаратов хроматина к синтезу общей РНК. Однако эти эффекты наблюдаются только при воздействии ауксина на клетки *до* выделения ядер или хроматина. Это означает, что *первичное* место действия ауксина находится вне ядра и что ауксин не оказывает прямого влияния на уровне транскрипции. Также отсутствуют данные об *избирательной* дерепрессии генов ауксинами *in vitro*. Имеются указания на то, что посредником ауксина в его влиянии на транскрипцию может служить некий «фактор транскрипции», высвобождающийся из плазмалеммы при действии этого гормона.

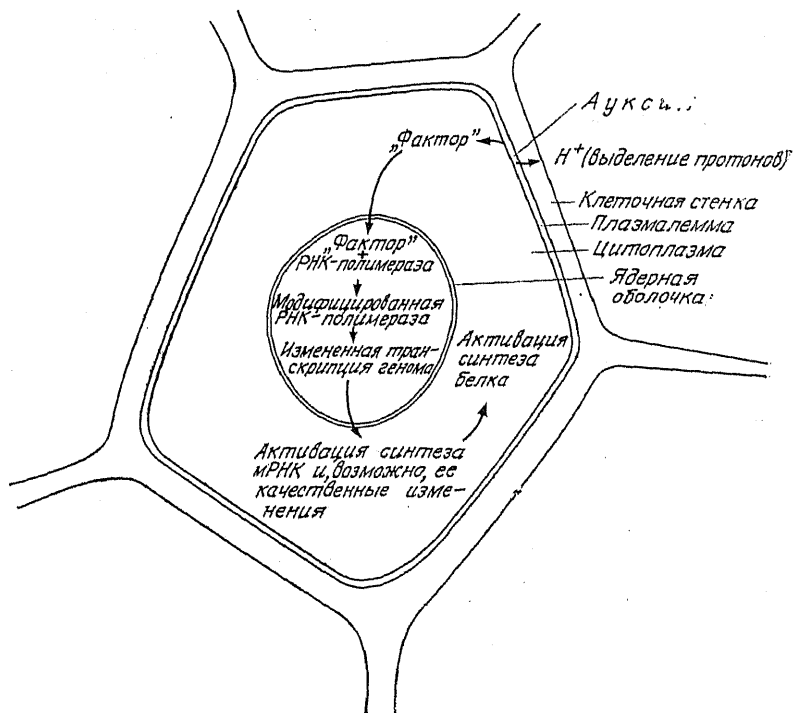


Рис. 4.20. Гипотетическая схема, объясняющая быструю и долгосрочную стимуляцию роста клеток ауксином. (J. W. Hardin, J. H. Cherry, D. J. Moré, C. A. Lembi, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 69, 3146—3150, 1972.)

Согласно модели, ауксин связывается с рецептором, расположенным в плазмалемме, что приводит к быстрому выделению протонов (H^+) в клеточную стенку. Следствием этого является «разрыхление» стенки и немедленное ее растяжение под влиянием тургора. Кроме того, связывание ауксина с рецептором на плазмалемме (тем же, который приводит в действие выделение H^+ , или другим) приводит к высвобождению фактора, движущегося в ядро и изменяющего там активность РНК-полимеразы.

Инкубация фрагментов плазмалеммы с ауксином приводит к быстрому высвобождению этого фактора, который стимулирует РНК-полимеразу *in vitro*. Это наблюдение можно использовать при создании гипотетической модели действия ауксина, охватывающей как быстрые, так и медленные ростовые реакции на гормон (см. рис. 4.20 и разд. 4.8).

Опыты по влиянию ауксина на трансляцию *in vitro* привели к гораздо менее определенным результатам. Обработка ауксином эпикотилей гороха повышала содержание связанных с мембранами полисом, способных синтезировать целлюлазу *in vitro*, и этому сопутствовало накопление мРНК. Эпикотили, не обработанные ауксином, не содержали транслируемой мРНК для целлюлазы, тогда как ее содержание в обработанных тканях

быстро увеличивалось без заметного лаг-периода. Это означает, что содержание мРНК не коррелирует со скоростью синтеза целлюлазы, поскольку этот синтез начинался с 24-часовым лаг-периодом. В связи с этим было высказано предположение, что влияние ауксина на трансляцию вторично, хотя можно предположить и альтернативные объяснения (например, что хотя мРНК транскрибирована, она не прошла все стадии посттранскрипционного процессинга и поэтому не может использоваться в трансляции). Таким образом, требуются дополнительные исследования, чтобы выяснить, могут ли ауксины регулировать трансляцию РНК, полностью прошедшей все этапы процессинга.

Изучение влияния гиббереллинов на ядра и хроматин *in vitro* привели к результатам, очень близким к только что описанным для ауксинов. Так, обработка гиббереллином интактных тканей изменяла трансляционную активность выделенных затем из этих тканей ядер или хроматина. Однако добавление гиббереллина к изолированным хроматину или ядрам не вызывало такого эффекта. Влияние гиббереллинов на трансляционную способность хроматина может включать транскрипцию дополнительных матриц или изменение активности полимеразы, хотя для этого нет строгих доказательств. Одни из лучших данных, показывающих связь между стимуляцией гиббереллином *de novo* синтеза фермента и образованием соответствующей мРНК, получены в работе с экстрактами из тканей алейронового слоя ячменя. Обработка алейронового слоя GA_3 приводила к увеличению содержания транслируемой *in vitro* мРНК для α -амилазы с такой же скоростью, с которой происходила активация синтеза фермента. Некоторые исследователи рассматривают это наблюдение как пример избирательной индукции мРНК гиббереллином, но, как мы уже говорили ранее в этой главе, состав мРНК и ферментов, синтезируемых клетками алейронового слоя, определяется пока еще невыясненными механизмами запрограммированного развития, а гиббереллин только вызывает эти предварительно запрограммированные ответные реакции. Другими словами, это действие гиббереллина нельзя рассматривать как пример избирательной дерепрессии генов гормоном. К тому же очевидно, что и в этих опытах влияние гиббереллина не было в действительности его действием *in vitro*, так как гормоном обрабатывали интактные клетки алейронового слоя, а *in vitro* определяли только последствия этого действия. Поэтому нет оснований считать, что даже неизбирательное влияние гиббереллина на транскрипцию является первичным действием гормона. Кроме того, пока нельзя не принимать в расчет, что гиббереллины могут влиять и на посттранскрипционном уровне.

Обработка органов и тканей растений цитокининами, как и обработка ауксинами и гиббереллинами, приводит к ускоренно-

му синтезу РНК и белка. Однако лишь небольшое число работ посвящено влиянию цитокининов, добавленных *in vivo* или *in vitro* на транскрипцию в изолированных ядрах, хроматине или ДНК. Было показано, что хроматин, выделенный из тканей некоторых растений, предварительно обработанных кинетином, обладал повышенной матричной активностью. Есть некоторые основания думать, что этот эффект определяется непосредственным взаимодействием кинетина и хроматина, а не влиянием кинетина на РНК-полимеразу или какие-то другие системы. Если бы цитокинин и в самом деле мог непосредственно связываться с хроматином, то это, очевидно, открыло бы нам многообещающие возможности для дальнейшего детального исследования регуляции транскрипции цитокининами. Однако такие исследования до сих пор не проводились. Гораздо больше внимания было уделено тому, что цитокинины содержатся в клетках не только в свободном состоянии, но и в составе тРНК (см. разд. 4.5) и что цитокинины довольно специфично связываются с некоторыми белками изолированных рибосом. Поэтому существует мнение, что цитокинины скорее влияют на трансляцию, чем на транскрипцию. Сообщения о специфическом связывании цитокининов с рибосомным белком продолжают появляться в печати, и, кроме того, удалось получить этот белок с определенной степенью чистоты и выяснить некоторые его свойства. Биологическое значение этих цитокининсвязывающих белков еще не установлено, хотя они продолжают интересовать исследователей, так как присоединение цитокининов к рибосомам могло бы иметь значение для регуляции их трансляционной активности в процессе синтеза белка.

Хорошо известно, что этилен влияет на синтез РНК *in vivo*, стимулируя или ингибируя его в зависимости от его действия на скорость роста. В процессе опадения листьев этилен является основным регуляторным гормоном (см. гл. 12), и активации этиленом синтеза целлюлазы в клетках отделительного слоя предшествует ускоренный синтез РНК. Однако очень мало работ посвящено изучению влияния этилена на синтез РНК и белка *in vitro*, но все-таки получены некоторые данные, свидетельствующие о количественных и качественных изменениях матричной активности препаратов хроматина из тканей, обработанных этиленом. Насколько непосредственно это влияние этилена на активность хроматина, пока неясно.

Абсцизовая кислота (АБК) вызывает ряд физиологических изменений, противоположных влиянию гиббереллинов, и ингибирование АБК индуцированного гиббереллином синтеза α -амилазы в алейроновом слое ячменя послужило основой для предположения, что АБК специфически подавляет ДНК-зависимый синтез РНК. Эта идея была до некоторой степени подтверждена опытами *in vitro*. АБК снижает количество транслируемой

мРНК для α -амилазы, и, кроме того, имеются другие данные относительно влияния АБК на концентрацию индивидуальных мРНК. Эти эффекты, по-видимому, объясняются действием АБК на транскрипцию, поскольку *in vitro* АБК влияет на транскрипцию и активность полимеразы.

4.7. ГОРМОНЫ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА У РАСТЕНИЙ

Клетки, которые увеличиваются в размерах и вакуолизируются, обычно перестают делиться. Такие клетки называют зрелыми, а процесс перехода из меристематического во взрослое состояние называют *созреванием*. Только в особых случаях, например в ответ на поранение или при культивировании на питательной среде (см. гл. 6), зрелые клетки могут снова вернуться в меристематическое состояние.

В отличие от созревания термин *дифференцировка* употребляют по отношению к процессам, приводящим к возникновению широкого разнообразия типов клеток и тканей, из которых состоит закончивший рост орган. Поскольку в процессе роста и вакуолизации клеток происходит как их созревание, так и дифференцировка, термин «дифференцировка» часто не слишком точно используют в обоих этих случаях, что приводит к некоторой неточности при обсуждении различных проблем.

Совершенно ясно, что гормоны, такие, как ауксины, играют важную роль в процессах роста и вакуолизации клеток. Но регулируют ли гормоны также и пути дифференцировки различных органов и тканей? Например, контролируется ли гормонами превращение одних клеток камбия в ксилему, а других — во флоэму?

Сейчас очевидно, что каждый из классов фитогормонов вызывает широкий спектр ответных реакций в различных частях растения, и в общем специфический тип дифференцировки каждого органа, по-видимому, определяется «препрограммированием» самих клеток-мишеней или тканей. Мы пока не знаем, что запрограммировано в этих клетках-мишенях, но ответная реакция на гормональный сигнал может обуславливаться природой рецепторов гормонов, образующихся в процессе развития клетки. Итак, во многих случаях специфический тип дифференцировки, который приводит в действие гормон, определяется не гормоном, а «программированием» или «компетенцией» клеток-мишеней.

Однако имеются данные, что в некоторых случаях гормоны действительно определяют характер дифференцировки. Например, в зависимости от концентраций в среде ауксина и цитокинина каллус из сердцевинки табака может образовывать почки или корни (гл. 6). Позже мы вернемся к вопросу о роли гор-

монов в процессе дифференцировки (с. 487—488), а сейчас мы не будем продолжать обсуждение этой проблемы, а только подчеркнем, что при дифференцировке изменяются экспрессия и активность генов; в данной же главе рассматриваются вопросы, привлечение внимания исследователей в связи с механизмами и путями действия гормонов.

4.8. ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Когда гормон действует на чувствительную к нему ткань, он вызывает какое-то изменение, которое в конечном счете приводит к измеримым физиологическим эффектам. Существуют два различных аспекта действия гормона; это, во-первых, первичное молекулярное взаимодействие, которое мы называем *механизмом* действия, и, во-вторых, последующие реакции, приводящие к физиологическому эффекту, которые можно назвать *способом* действия гормона. Очевидно, что каждый тип гормонов должен обладать своим собственным особым механизмом действия, но способ действия гормона меняется в зависимости от компетенции клетки, подвергнутой воздействию гормона (т. е. от препрограммирования развития), и от других факторов, в том числе от присутствия других гормонов.

Материал, приведенный в данной главе, с очевидностью свидетельствует о том, что, несмотря на многочисленные попытки выяснить механизм действия фитогормонов и на многочисленность опубликованных экспериментальных результатов, мы все еще не знаем, как на самом деле эти вещества действуют на субклеточном уровне. Пожалуй, основная трудность в выяснении механизма действия гормонов заключается в том, что спектры их действия перекрывают и дополняют друг друга.

Для каждого из гормонов нелегко предложить единственный механизм действия, применимый ко всем ситуациям. Например, влияние гиббереллина на синтез гидролитических ферментов в клетках алейронового слоя и задержка тем же самым гормоном старения листьев у некоторых растений — процессы столь различные по своей природе, что, несомненно, должны характеризоваться разными механизмами действия. Тем не менее возможно, что одна и та же основная реакция (механизм) ответственная за инициацию различных способов действия, которые и приводят к самым разнообразным ответным реакциям на данный гормон. В таком случае всякий наблюдаемый ответ на обработку гормоном является только конкретным выражением основной реакции, и это выражение зависит от экспрессии генов и метаболического состояния обрабатываемых клеток. Из такой концепции следует, что гормон всегда взаимодействует с одним и тем же фактором (его рецептором) и что природа ответной

реакции определяется не гормоном. Иными словами, гормон действует только как посредник, активирующий уже существующую в клетке систему, так что сигнал, возникший при взаимодействии гормона и рецептора, усиливается путем «каскадной» регуляции метаболических реакций. Такая общая схема достаточно хорошо отражает наиболее обычную ситуацию, когда гормон действует на ткани, последующее развитие которых предопределено (например, гиббереллин в клетках алейронового слоя), но в некоторых случаях, когда гормоны сами определяют тип ответной реакции (например, взаимодействие между ауксином и цитокинином при регуляции закладки стеблевых почек или корней в культуре каллуса — см. гл. 6), они же, по-видимому, являются и передатчиками информации и самой информацией. Для объяснения этих немногих случаев, когда фитогормоны определяют тип ответной реакции, необходимо допустить, что в изучаемых клетках существуют места связывания с различным сродством к данному гормону и происходит взаимодействие между рецепторами для разных гормонов.

Как мы уже говорили в этой главе, физиологи растений и биохимики активно исследуют места связывания гормонов в растительных клетках, и достигнутые в настоящее время успехи дают основание для определенного оптимизма. Где в клетке локализованы такие рецепторы? Имеется много данных, свидетельствующих об участии различного типа клеточных мембран в процессах взаимодействия с гормоном. Например, мы уже видели, что все фитогормоны регулируют рост растений при помощи как быстро-, так и медленно работающих систем, причем последние, очевидно, приводятся в действие быстрыми системами. Самые быстрые ответные реакции, по-видимому, опосредованы влиянием гормона на мембраны, а более медленные эффекты связаны с изменениями в процессах транскрипции генов и трансляции. Хорошим примером этому служит влияние ауксина на рост клеток растяжением: первичную ответную реакцию можно наблюдать менее чем через 10 мин, и для нее не нужен синтез белка, тогда как длительный рост клеток, продолжающийся часами, зависит от синтеза РНК и белка. Быстрый ростовой ответ на ауксин связан с выделением протона (H^+) с помощью протонного насоса, который приводится в действие локализованной в плазмалемме АТФазой (см. рис. 4.13). Но как мы уже видели, в опытах *in vitro* было получено, что при инкубации с ауксином фрагментов плазмалеммы из них высвобождается фактор, который, очевидно, транспортируется в ядро, где он активирует (а быть может, и изменяет качественно) РНК-полимеразу (рис. 4.20). Такие схемы, хотя они в значительной степени предположительные, намечают пути для рациональных будущих исследований в этом захватывающем разделе биологии.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Abeles F. B., 1973. Ethylene in Plant Biology, Academic Press, New York and London.
- Audus L. J., 1972. Plant Growth Substances, 3rd ed., vol. 1, L. Hill Ltd., London.
- Leopold A. C., Kriedemann P. E., 1975. Plant Growth and Development, 2nd ed., McGraw-Hill, New York.
- Letham D. S., Goodwin P. B., Higgins T. J. V. (eds.), 1978. Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise, vol 1: The Biochemistry of Phytohormones and Related Compounds, Elsevier-North, Holland, Amsterdam.
- Moore T. C., 1969. Biochemistry and Physiology of Plant Hormones, Springer-Verlag, New York/Heidelberg/Berlin.
- Wilkins M. B. (ed.), 1969. Physiology of Plant Growth and Development, McGraw-Hill, London.

Специальная литература

- Abeles F. B. (1972). Biosynthesis and mechanism of action of ethylene, Ann. Rev. Plant Physiol., 23, 259—292.
- Bauer W. D., 1977. Plant cell walls. In: The Molecular Biology of Plant Cells (ed. H. Smith), Blackwell Scientific, Oxford, pp. 6—23.
- Bengochea T., Acaster M. A., Dodds J. H., Evans D. E., Jerie P. H., Hall M. A. (1980). Studies of ethylene binding by cell-free preparations from cotyledons of *Phaseolus vulgaris* L.: Effect of structural analogues of ethylene and of inhibitors, Planta, 148, 407—411.
- Bengochea T., Dodds J. H., Evans D. E., Jerie P. H., Niepel B., Shaari A. R., Hall M. A. (1980). Studies on ethylene binding by cell-free preparations from cotyledons of *Phaseolus vulgaris* L.: Separation and characterisation, Planta, 148, 397—406.
- Cherry J. H., 1977. Hormone action. In: The Molecular Biology of Plant Cells (ed. H. Smith), Blackwell Scientific, Oxford, pp. 329—364.
- Cleland R. E., 1977. The control of cell enlargement, Symposia Soc. Exper. Biol. XXXI, Integration of Activity in the Higher Plant, pp. 101—115.
- Grierson D., 1977. The nucleus and the organization and transcription of nuclear DNA. In: The Molecular Biology of Plant Cells (ed. H. Smith), Blackwell Scientific, Oxford, pp. 213—255.
- Hall R. H. (1973). Cytokinins as a probe of developmental processes, Ann. Rev. Plant Physiol., 24, 415—444.
- Higgins T. J. V., Jacobsen J. V., 1978. Phytohormones and subcellular structural modification. In: Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise, vol. 1 (eds. D. S. Letham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), Elsevier-North Holland, Amsterdam, pp. 419—465.
- Higgins T. J. V., Jacobsen J. V., 1978. The influence of plant hormones on selected aspects of cellular metabolism. In: Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise (eds. D. S. Letham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), vol. 1, Elsevier-North Holland, Amsterdam, pp. 467—514.
- Jacobsen J. V. (1977). Regulation of ribonucleic acid metabolism by plant hormones, Ann. Rev. Plant Physiol., 28, 537—564.
- Jacobsen J. V., Higgins T. J. V., 1978. The influence of phytohormones on replication and transcription. In: Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise (eds. D. S. Letham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), vol. 1, Elsevier-North Holland, Amsterdam, pp. 515—582.
- Jacobsen J. V., Higgins T. J. V., 1978. Posttranscriptional, translational and post-translational effects of plant hormones. In: Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise (eds. D. S. Letham, P. B. Goodwin and

- T. J. V. Higgins), vol. 1, Elsevier-North Holland, Amsterdam, pp. 583—621.
- Kende H., Gardner G. (1976). Hormone binding in plants, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **27**, 267—290.
- Lieberman M. (1979). Biosynthesis and action of ethylene, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **30**, 533—591.
- Penny P., Penny D., 1978. Rapid responses to phytohormones. In: *Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise*, vol. II (eds. D. S. Leatham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), Elsevier-North Holland, Amsterdam, pp. 537—597.
- Pilet P. E. (ed.), 1977. *Proc. 9th Int. Conf. Plant Growth Regulating Substances, Plant Growth Regulation*, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg.
- Skoog F., Schmitz R. Y., 1972. Cytokinins. In: F. C. Steward (ed.), *Plant Physiology—a Treatise*, Academic Press, New York, pp. 181—212.
- Stoddart J. L. (1979). Interaction of [^3H] Gibberellin A₁ with a subcellular fraction from lettuce (*Lactuca sativa* L.) hypocotyls. I. Kinetics of labelling, *Planta* (Berl.), **146**, 353—361; II. Stability and properties of the association, *Planta* (Berl.), **146**, 363—368.
- Varner J. E., Ho D. T.-H., 1977. Hormonal control of enzyme activity in higher plants. In: *Regulation of Enzyme Synthesis and Activity in Higher Plants* (ed. H. Smith), Academic Press, London, pp. 83—92.
- Walton D. C. (1980). Biochemistry and physiology of abscisic acid, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **31**, 453—489.
- Wightman F., Setterfield G. (eds.), 1969. *Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances*, The Runge Press, Ottawa.
- Zeroni M., Hall M. A., 1981. Molecular aspects of hormone treatment on tissue. In: *Encyclopedia of Plant Physiology* (N. S.), vol. , (ed. J. Macmillan), Springer-Verlag, Heidelberg and Berlin, pp. 511—586.

Глава 5

Гормональная регуляция в целом растении

5.1. ВВЕДЕНИЕ

Пространственная координация развития растений зависит от передвижения веществ между клетками и тканями. Различают 1) *ближний транспорт между* соседними и близко расположенными клетками и 2) *дальний транспорт*, связанный с взаимодействиями на сравнительно больших расстояниях. Примером ближних взаимодействий являются реакции узнавания пыльцы рыльцем (с. 489), но значение ближнего транспорта во взаимодействиях между соматическими клетками пока неясно. Вместе с тем имеются многочисленные данные, свидетельствующие о том, что ростовые вещества растений (фитогормоны) играют важную роль в межклеточных взаимодействиях.

Было показано, что ростовые вещества выполняют различные важные для роста и дифференцировки функции, в частности: 1) при коррелятивных взаимодействиях различных органов и частей растения, осуществляемых на сравнительно больших расстояниях, и 2) в тех случаях, когда факторы внешней среды влияют через изменение содержания и распределения в растении эндогенных фитогормонов. Накоплено гораздо больше информации относительно роли фитогормонов в регуляции роста и дифференцировки уже *существующих* органов растений, чем о возможном значении этих гормонов в инициации образования тканей и органов. Тем не менее все же вероятно, что фитогормоны играют какую-то роль при определении места заложения тканей и органов. Так, можно напомнить об образовании корней на стеблевых черенках и об инициации развития почек и корней в культуре каллуса (гл. 6) под влиянием уже известных фитогормонов.

Чтобы отвечать определенным требованиям, предъявляемым традиционным определением гормонов, вещество должно высвобождаться из синтезирующей его клетки и влиять на другие клетки, т. е. места синтеза и действия гормона должны быть пространственно разделены, и гормон должен перемещаться по организму. Кроме того, для регуляции какого-либо процесса концентрация гормона должна изменяться в пространстве или во времени. Этим критериям, безусловно, отвечает гормональный контроль роста coleoptилей *Avena*. Действительно, ауксин, синтезируемый в верхушке coleoptиля, стимулирует рост клеток растяжением в его основании. Можно привести и другие подобные примеры действия ауксина. Однако для других основных

групп фитогормонов труднее показать, что они строго соответствуют традиционному определению «гормон».

Совершенно ясно, что транспорт и распределение ростовых веществ в растении должны играть решающую роль в осуществлении пространственной координации роста и развития. Поэтому так много внимания было уделено выяснению 1) мест биосинтеза гормонов, 2) способа их передвижения и распределения и 3) влияния различных факторов внешней среды, таких, как освещение или гравитация, на содержание и распределение гормонов в растении. Поэтому мы сначала рассмотрим некоторые из этих проблем, а затем перейдем к другим аспектам гормональной регуляции и координации развития. Последние главы будут посвящены возможной роли фитогормонов во временной координации ростового ответа на такие факторы внешней среды, как длина светового дня и температура.

5.2. ТРАНСПОРТ ФИТОГОРМОНОВ

От мест синтеза фитогормоны перемещаются в другие части растения и влияют на клетки и ткани, с которыми вступают в контакт. Поэтому естественно ожидать, что передвижение этих веществ подвержено строгому контролю. Тем не менее позже мы увидим, что, хотя некоторые данные и свидетельствуют в пользу существования специфического транспорта абсцизовой кислоты, цитокининов и гиббереллинов, полярность транспорта надежно показана только для ауксинов (т. е. ауксины обычно движутся вдоль продольной оси растения в одном направлении быстрее, чем в противоположном). Полярность передвижения ауксинов, несомненно, очень важна для координации роста и дифференцировки различных частей растения, поэтому сначала мы рассмотрим имеющиеся в нашем распоряжении данные о передвижении ауксинов по растению, а затем перейдем к другим гормонам.

В различных изученных тканях побегов (колеоптили, стебли, гипокотили, черешки и цветоножки) ауксины быстрее движутся *базипетально* (т. е. от морфологически апикальной к базальной зоне), чем *акропетально* (от базальной к апикальной зоне). Позже мы увидим, что транспорт ауксина в корнях тоже полярен, но, по имеющимся данным, он может быть в зависимости от зоны корня либо преимущественно акропетальным, либо базипетальным.

5.2.1. Передвижение ауксина в тканях побега

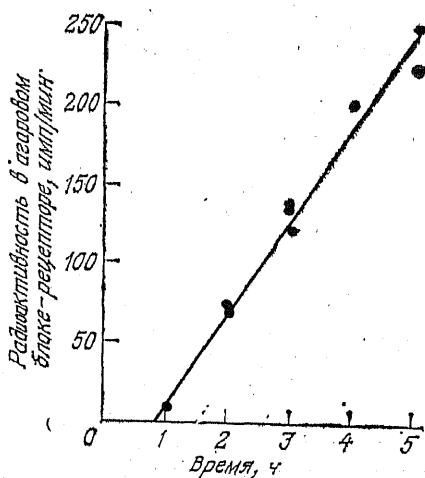
Полярное базипетальное передвижение ауксина происходит во всех органах вегетативного побега. Большая часть опытов в этом направлении была проведена на коротких (обычно дли-

ной 5—10 мм) отрезках coleoptилей, стеблей, черешков и т. п. В принципе методика всех экспериментов сводилась к нанесению ауксина на один конец отрезка и прослеживанию за его перемещением вдоль отрезка. Для того чтобы определить, в каком количестве и на какое расстояние передвигается ауксин в таких отрезках, используют разные методы, чаще всего систему агаровых блоков «донор—рецептор». При этом содержащий ауксин агаровый блок (донор) помещают на поверхность среза одного из концов отрезка, а второй агаровый блок (рецептор) — на противоположный конец. Молекулы ауксина входят в отрезок из блока-донора, передвигаются вдоль отрезка и в конце концов переходят в блок-рецептор. Начав поступать в блок-рецептор, ауксин накапливается там с линейной скоростью, если условия проведения опыта сохраняются постоянными. Среднее время, необходимое для передвижения ауксина от одного конца отрезка до другого, можно определить по пересечению прямой накопления ауксина в рецепторе с временной шкалой (рис. 5.1). Поскольку длина отрезка известна, можно вычислить скорость передвижения ауксина (расстояние, проходимое в единицу времени).

Используя метод «донор—рецептор», Вент в 1928 г. обнаружил, что в отрезках coleoptилей *Avena* ауксин движется только базипетально. Независимо от ориентации отрезков относительно направления гравитации ауксин появлялся в блоке-рецепторе, только если этот блок был помещен на морфологически базальном конце, а блок-донор — на морфологически апикальном конце. Неизвестно, что за ауксин использовал в своих опытах Вент, но, вероятно, это была ИУК, так как гормон выде-

Рис. 5.1. Определение скорости базипетального полярного транспорта 3-индолилуксусной кислоты (ИУК) в отрезках черешков фасоли. (С. С. McCready, W. P. Jacobs, New Phytol., 62, 19—34, 1963.)

На базальный конец каждого отрезка помещали агаровый гель (блок-донор), содержащий радиоактивную ИУК (^{14}C -ИУК) в концентрации 50 мкМ, а на базальный конец — блок-рецептор из чистого агара. Радиоактивность, появляющаяся в блоке-рецепторе, определяли в течение некоторого времени через каждый час. Прямая, показывающая радиоактивность в блоке-рецепторе, пересекает ось абсцисс в точке, соответствующей 0,8 ч. Длина отрезков черешков была равна 5,44 мм. Следовательно, ИУК передвигалась базипетально со скоростью 6,8 мм/ч.



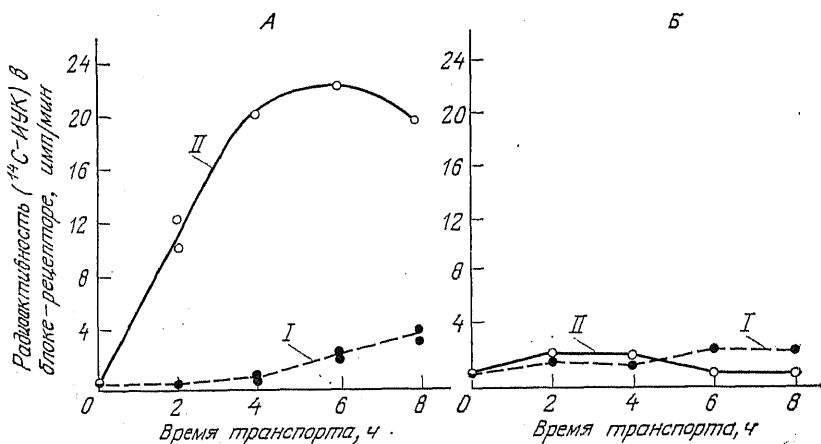


Рис. 5.2. Влияние анаэробных условий на базипетальный полярный (А) и акропетальный неполярный (Б) транспорт ауксина в отрезках coleoptилей овса. (М. В. Wilkins, М. Martin, Plant Physiol., 42, 831—839, 1967.)

Был использован метод агарового блока-рецептора. ^{14}C -ИУК наносили на отрезки длиной 5 мм. Отсутствие кислорода (I) подавляло базипетальный полярный транспорт ИУК и заметно не влияло на и без того очень низкую скорость акропетального транспорта. II — транспорт ауксина в аэробных условиях.

ляли из верхушек coleoptилей *Avena*. Другие исследователи повторили опыты Вента и подтвердили существование полярного базипетального передвижения ИУК в coleoptилях, стеблях, гипокотильях и черешках. В более ранних исследованиях, как и в исследованиях Вента, количество ИУК в блоке-рецепторе измеряли с помощью биотеста. Позже синтез радиоактивных ауксинов позволил провести более точные опыты. Стало известно, что: 1) передвижение ауксина в надземных органах не всегда происходит только в одном направлении, так как наряду с базипетальным передвижением происходит небольшое по масштабу акропетальное движение (рис. 5.2); 2) полярность передвижения свойственна не только ИУК, но и некоторым синтетическим ауксинам, таким, как 2,4-дихлорфеноксиксусная кислота (2,4-Д), 3-индолилмасляная кислота и нафтилуксусная кислота (НУК), и 3) полярность транспорта ауксина нарушается при подавлении процессов дыхания в тканях (рис. 5.2).

Рядом исследователей была измерена скорость базипетального полярного транспорта ауксина в различных органах. Значения, полученные для полярного транспорта ИУК, лежат в пределах от 5 до 15 мм/ч, а синтетические ауксины хотя и движутся полярно, но гораздо медленнее. Например, 2,4-Д в отрезках черешков *Phaseolus vulgaris* передвигается базипеталь-

но со скоростью всего 1 мм/ч, тогда как соответствующая величина для ИУК была равна 6 мм/ч.

Скорость акропетального передвижения ауксина в надземных органах не была точно измерена, но обычно она гораздо меньше, чем скорость базипетального передвижения. Однако ряд факторов влияет на соотношение скоростей базипетального и акропетального транспорта. Так, полярность движения ауксина снижается с увеличением возраста изучаемой ткани. Пока неясно, происходит ли это за счет снижения базипетального передвижения, за счет усиления акропетального тока или за счет обоих этих явлений. Тем не менее очевидно, что процессы созревания в тканях связаны с постепенным снижением полярности транспорта ауксина. В связи с этим было высказано предположение, что полярный транспорт ауксина происходит только в процессе роста клеток растяжением. Правда, проведенные в 1967 г. Мак-Креди и Джейкобсом точные измерения показали, что в отрезках черешков фасоли базипетальный транспорт 2,4-Д проходил интенсивнее при подавлении роста маннитом, чем при усиленном росте растяжением, вызванном гибберелловой кислотой (ГАЗ). Вместе с тем ранее было обнаружено, что ГАЗ стимулировала базипетальное передвижение ИУК в тканях стебля. Таким образом, мы не знаем ни то, каким образом происходит уменьшение полярности передвижения ауксина в зрелых тканях, ни то, какое это может иметь значение.

Гравитационная сила, очевидно, каким-то образом влияет на базипетальное передвижение ауксинов, поскольку некоторые исследователи обнаружили, что если расположить в норме прямостоячий орган в горизонтальном или перевернутом положении, то скорость базипетального транспорта ауксина снизится. Это явление, быть может, частично обуславливает геотропическую реакцию растительных органов, хотя для проверки такого предположения требуется еще много дополнительной работы.

Несмотря на тщательные исследования полярного транспорта ауксина, продолжающиеся более 40 лет, мы все еще не знаем путей его передвижения. Скорость полярного передвижения ауксина (0,5—1,5 см/ч) гораздо меньше, чем скорость флоэмного транспорта (10—100 см/ч), и направление движения веществ по флоэме в верхних частях стебля скорее акропетально, чем базипетально. По этой и другим причинам представляется маловероятным, что в норме ауксин передвигается по флоэме. Очевидно, что ауксин не может передвигаться и по другой проводящей ткани, ксилеме, так как ток веществ в ксилеме также направлен вверх и мертвые элементы ксилемы не могут обеспечить энергией полярный транспорт ауксина. Результаты ранних работ свидетельствуют о том, что во *всех* клетках отрезка колеоптиля может происходить базипетальное передвижение аук-

сина со скоростью 1 см/ч. Однако мы не можем быть уверены, что это справедливо и в отношении стеблей, поскольку в сегментах из сердцевины стебля *Coleus* ауксин совсем не мог передвигаться, если там не было проводящей ткани. В последние годы было показано, что базипетальное передвижение ауксина в стеблях происходит главным образом или исключительно в тканях проводящих пучков. Кажется вероятным, хотя это ни в коей мере нельзя считать доказанным, что полярный транспорт ауксина, по крайней мере в стеблях, происходит по прокамбию, камбию и вновь образованным производным камбия (в частности, инициальным клеткам флоэмы). Вместе с тем в колеоптилях, по данным некоторых исследователей, базипетальное полярное передвижение ауксина происходит по паренхиме по крайней мере так же легко, как по проводящим тканям.

5.2.2. Передвижение ауксина в корнях

До сравнительно недавнего времени было выполнено очень мало специальных исследований по передвижению ауксина в корнях, и, может быть, поэтому в этой области знаний в течение многих лет существовала большая путаница. Однако проведенные после 1964 г. несколькими группами исследователей опыты, в которых оценивали передвижение радиоактивной ИУК в отрезках корней с использованием метода агаровых блоков «донор—рецептор», достаточно ясно показали, что в корнях ряда видов ауксин движется полярно и что направление этого движения в большинстве или во всех случаях *акропетально* (рис. 5.3). Следовательно, в корнях мы имеем ситуацию, обратную ситуации в тканях побега, и нам еще предстоит понять физиологическое значение этого различия для нормальной регуляции роста корней и реакции геотропизма. Скорость полярного акропетального передвижения ауксина в корнях равна примерно 1 см/ч, т. е. равна скорости базипетального полярного передвижения ауксина в тканях побега. Несмотря на то что в большинстве случаев ауксин движется в корнях акропетально, некоторые новые данные указывают на возможность базипетального полярного транспорта ауксина в более апикальных участках корней. Возможное физиологическое значение такой ситуации также пока не ясно.

Как и в случае тканей стебля, имеющиеся экспериментальные данные позволяют предполагать, что ауксин в корнях движется прежде всего по тканям проводящих пучков, в частности по камбию и новообразованной флоэме.

5.2.3. Механизм полярного передвижения ауксина

Полярное передвижение ауксина в органах растений — это одно из проявлений полярности каждой индивидуальной клетки (гл. 1). Опыты с отрезками таких органов, как колеоптили и

стебли, показали, что полярность передвижения (т. е. отношение базипетального передвижения к акропетальному) возрастает примерно экспоненциально с увеличением длины изучаемого отрезка (рис. 5.4). На этом основании можно предположить, что некоторая полярность передвижения ауксина свойственна каждой клетке, а при передвижении ауксина вдоль органа через ряды клеток происходит сложение индивидуальной полярности каждой клетки. Ситуация, подобная той, которая возникает при соединении серии маленьких электрических батареек для получения более высокого электрического напряжения. Леопольд и Холл в 1966 г. предложили математическую модель ситуации, возникающей при объединении группы клеток, каждая из которых обладает небольшой полярностью передвижения ауксина:

$$p = 1 + \frac{\log Q}{0,875N},$$

где p — полярность индивидуальной клетки; Q — коэффициент полярности (экспериментально измеренное отношение базипетального движения ауксина в отрезке к акропетальному); N — число клеток по длине отрезка.

Пользуясь этой формулой, можно подсчитать, что у отрезков coleoptилей *Zea mays* наблюдаемая суммарная полярность передвижения ауксина может возникнуть, если базипетальная полярность каждой из клеток продольного ряда будет равна 1—10% (т. е. каждая клетка должна выделять в базальном направлении всего в 1,01—1,1 раза больше ауксина, чем в апикальном). Так же могут быть сделаны расчеты по данным для гипокотилей подсолнечника, представленным на рис. 5.4. Отрезки длиной 10 мм состояли из 80 клеток коры, и коэффициент полярности был равен 149.

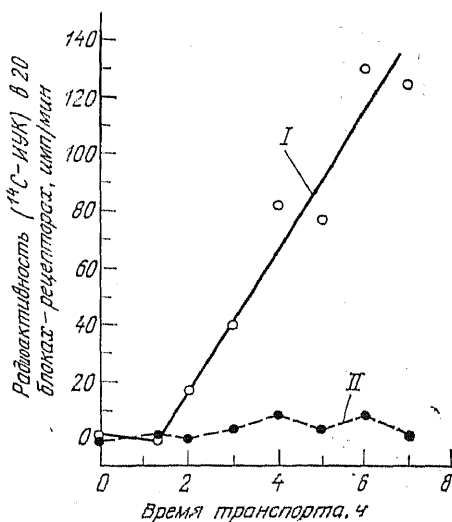


Рис. 5.3. В отрезках корней ауксин движется акропетально. (F. K. Scott, M. B. Wilkins, *Planta*, 83, 323—334, 1968.) Показано передвижение ^{14}C -ИУК в отрезках корней *Zea mays* длиной 6 мм. Агаровый блок-донор содержал ^{14}C -ИУК в концентрации 1 мкМ. I — акропетальный транспорт; II — базипетальный транспорт.

$$\therefore p = 1 + \frac{2,17}{0,875 \times 80} = 1,03.$$

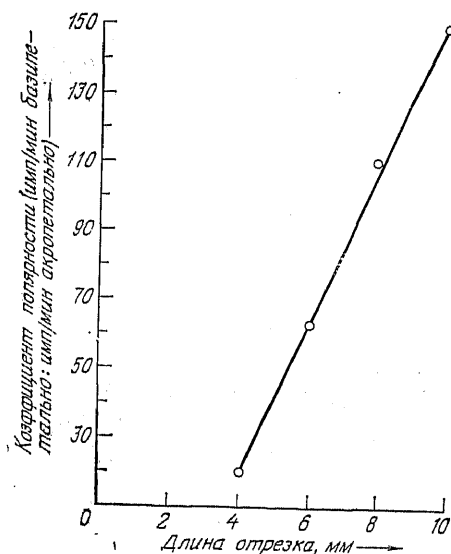


Рис. 5.4. Полярность передвижения ауксина (^{14}C -ИУК) в отрезках гипокотилей *Heliantus annuus* различной длины. (Ранее неопубликованные данные S. P. Watkinson и I. D. J. Phillips.)

Радиоактивная ИУК появлялась в блоках-рецепторах после 4-часовой инкубации с блоками-донорами (содержащими ^{14}C -ИУК) на противоположном конце сегментов. Измеряли скорость как базипетального, так и акропетального транспорта. На графике представлен коэффициент полярности (базипетальный транспорт/акропетальный транспорт). Можно видеть, что скорость базипетального транспорта возрастает с увеличением длины отрезка.

Таким образом, хотя в отрезках длиной 10 мм 10 314 имп./мин радиоактивной ИУК двигалось базипетально и только 69 имп./мин — акропетально (что и дает коэффициент полярности $10\,314 : 69 = 149$), общая большая суммарная полярность была обусловлена базипетальной полярностью каждой клетки вдоль гипокотыля; равной всего 3%.

Механизм полярного передвижения ауксина пока не выяснен. Правда, давно уже было известно, что полярное передвижение ауксина связано с метаболическими процессами, так как 1) скорость этого передвижения больше, чем она могла бы быть при простой физической диффузии; 2) она максимальна при температурах оптимальных для работы большинства ферментов ($20\text{--}30^\circ\text{C}$); 3) для поддержания полярного передвижения необходимо дыхание, особенно аэробное; 4) ауксин может полярно передвигаться против градиента своей концентрации и 5) полярность транспорта, очевидно, специфична для молекул, обладающих такой же биологической активностью, как ИУК.

Полярное движение ауксина происходит путем его транспорта от клетки к клетке через плазматические мембраны и клеточные стенки. Плазмодесмы, соединяющие соседние клетки, не играют заметной роли в передвижении ауксина. Так, было показано, что разрушение плазмодесм осмотическим шоком не приводило к нарушению нормального полярного передвижения ауксина в тканях.

До недавнего времени считалось общепринятым, что ауксин пассивно поглощается любой клеткой, движется по цитоплазме (а, возможно, также через вакуоль) и выделяется с одного из

концов клетки через плазматическую мембрану с помощью переносчика и при затрате энергии. Другими словами, локальная система *активного транспорта* ответственна за выделение ауксина и, следовательно, за полярный транспорт. Как и во всех других системах активного транспорта в клетке, энергия потребляется только тогда, когда транспортируемая молекула (например, ИУК) пересекает клеточную мембрану. Однако ни разу никем не было показано, что потребление энергии непосредственно связано с движением ауксина в клетку или из нее. Поскольку надежные данные в пользу действительно активного передвижения ауксина отсутствуют, недавно было предложено другое объяснение полярного транспорта ауксина. Это так называемая «*хемиосмотическая*» гипотеза полярного передвижения ауксина.

Хемиосмотическая гипотеза передвижения ИУК учитывает следующие факты: 1) ИУК — это слабая кислота ($pK=4,7$) с липофильными свойствами и 2) недиссоциированная ИУК (ИУКН) более гидрофобна, чем ее анион (ИУК⁻). Это означает, что клеточные мембраны примерно в 200 раз более проницаемы для ИУКН, чем для ИУК⁻. Поскольку клеточная стенка растений характеризуется кислым pH, присутствующая в ней ИУК не диссоциирована (ИУКН), а цитоплазма клеток более щелочная ($pH > 4,7$), и ИУКН, которая легко поступает в клетку, немедленно диссоциирует до ИУК⁻ и в такой форме ей уже гораздо труднее снова покинуть клетку.

Хемиосмотическая гипотеза полярного передвижения ауксина предполагает существование в плазматической мембране переносчиков для ИУК⁻. Эти переносчики (облегчающие выход ИУК⁻ из клетки) должны быть распределены асимметрично по окружности клетки, так что в каждой клетке ткани, способной к базипетальному передвижению ауксина, концентрация переносчиков ИУК⁻ в плазмалемме должна быть выше на базальном конце, чем на апикальном. Поскольку плазмалемма высокопроницаема для недиссоциированной формы ИУК, происходит пассивное уравнивание ИУКН по всей окружности клетки. Однако внутри клеточной мембраны должна быть высокая концентрация ИУК⁻. Цитоплазма заряжена отрицательно по отношению к клеточной стенке. Поэтому возникает движущая сила, стремящаяся вытолкнуть ИУК⁻ из клетки. Сильная гидрофильность ИУК⁻ затрудняет ее переход через клеточную мембрану, несмотря на благоприятный для ее выхода электрический градиент. Выход ИУК⁻ происходит только в участках с высокой концентрацией ее трансмембранных переносчиков. Ауксин будет передвигаться полярно, если отношение проницаемости для аниона к проницаемости для недиссоциированного ауксина, т. е. $P_{\text{ИУК}}/P_{\text{ИУК}^-}$ (где P — коэффициент проницаемости) на одном конце клетки больше, чем на другом.

Таким образом, хемиосмотическая гипотеза полярного передвижения ауксина и гипотеза активного транспорта похожи в двух отношениях: 1) согласно обеим гипотезам, поглощение ИУК (в виде ИУКН) происходит путем «пассивной» диффузии; 2) обе гипотезы предполагают неравномерное распределение молекул переносчика ауксина в плазмалемме. Различие заключается в том, что, согласно гипотезе активного транспорта, энергия необходима непосредственно для работы переносчика, тогда как хемиосмотическая гипотеза предполагает, что движение ауксина термодинамически выгодно и что энергия необходима только для поддержания рН, электрических градиентов и полярной проницаемости. Хотя некоторые экспериментальные данные свидетельствуют в пользу хемиосмотической гипотезы полярного передвижения ауксина, необходимы дополнительные исследования, чтобы полностью оценить ее преимущества в сравнении с уже давно принятой гипотезой активного транспорта.

5.2.4. Передвижение гиббереллинов в растениях

Передвижение гиббереллинов изучено гораздо хуже, чем передвижение ауксинов. Тем не менее получены достаточно убедительные данные, показавшие неполярную природу передвижения гиббереллинов. Исключение составляют, быть может, только черешки листьев. Так, по многочисленным наблюдениям, гиббереллины, нанесенные на какую-нибудь часть растения, вызывают ответную реакцию всех других частей побега или корня, что является косвенным свидетельством неполярности передвижения этого гормона. Более прямые данные в пользу свободного передвижения гиббереллинов во всех направлениях внутри растения были получены с использованием радиоактивных гиббереллинов (рис. 5.5).

При изучении передвижения гиббереллинов обычно не пользуются методом агаровых блоков «донор—рецептор», который оказался таким удобным и важным при изучении передвижения ауксинов в отрезках стеблей, coleoptилей и т. п. Это связано с тем, что ^{14}C - или ^3H -гиббереллины достаточно легко поглощаются отрезками ткани, но совсем не выделяются в агаровый блок-рецептор. Причины этого неизвестны, но поражает контраст с поведением ^{14}C -ауксинов, которые легко переходят в такой блок-рецептор, что подчеркивает секреторную природу полярного передвижения ауксинов.

Считается, что передвижение гиббереллинов в растении происходит вместе с нормальным током веществ в проводящих тканях флоэмы и ксилемы, так как они обнаружены и в ксилемном, и во флоэмном соке. Однако в одном случае передвижение гиббереллинов нельзя объяснить ни флоэмным, ни ксилемным транспортом. Это движение от предполагаемого места синтеза

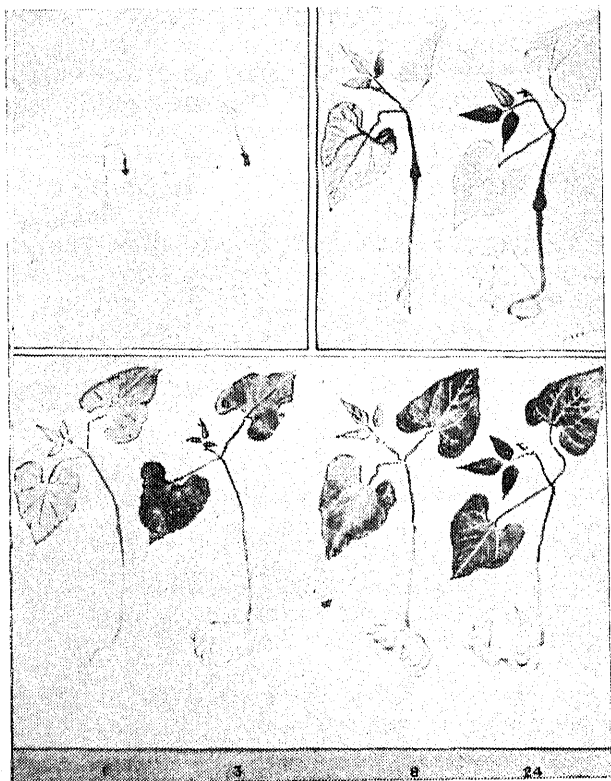


Рис. 5.5. Свободное, неполярное передвижение гиббереллина в растениях фасоли. (G. Zweig et al., Adv. Chem. Ser., 28, 122—134, 1961. Фотография подарена д-ром Г. Цвейгом.)

^{14}C -гиббереллин вводили в семядольный узел, а затем с помощью радиоавтографин следили за постепенным распределением гормона по растению.

гиббереллинов в молодых растущих листьях по черешку и далее вниз по стеблю. Молодые листья являются источником большого количества органических и неорганических веществ, и направление движения этих веществ как в ксилеме, так и во флоэме акропетальное (вверх), к апикальной части побега. Если флоэмный транспорт определяется градиентом ассимилятов, тогда трудно представить базипетальное передвижение гиббереллинов в апикальной части побега.

5.2.5. Передвижение цитокининов

Пока о передвижении цитокининов по растению не известно ничего определенного. Полученные по этому вопросу данные немногочисленны, фрагментарны и противоречивы.

Результаты опытов, продемонстрировавшие роль корней в снабжении цитокининами листьев и в предотвращении их преждевременного старения (гл. 12), ясно указывают на передвижение цитокининов вверх по стеблю. Кроме того, цитокинины обнаружены в ксилемном соке, поднимающемся от корневой системы. Вместе с тем цитокинины, синтезирующиеся в молодых развивающихся плодах, по-видимому, вообще не покидают эти плоды. Точно так же многочисленные опыты с экзогенными цитокининами, такими, как кинетин, показали, что цитокинины могут довольно долго оставаться в месте их нанесения, даже если общий ток метаболитов направлен от этого участка.

Согласно некоторым данным, цитокинины могут передвигаться не как свободные пурины, а в виде конъюгатов, таких, как рибозиды или глюкозиды. Оба типа веществ обнаружены в ксилемном и флоэмном соке.

5.2.6. Передвижение этилена

Хотя можно думать, что этилен как низкомолекулярное соединение может свободно передвигаться по тканям растений путем обычной физической диффузии, на самом деле это не так. Например, в конских бобах «сопротивление» продольному передвижению этилена вверх и вниз по растению так велико, что он выделяется в латеральных направлениях и различные части растения оказываются изолированными друг от друга в отношении передвижения этого газа. Точно так же если обработать этиленом лист, то только небольшое количество газа попадает в конце концов в стебель, а остальной этилен выделяется через черешок. Таким образом, этилен не передвигается из одной части растения в другую в сколько-нибудь заметных количествах.

Несмотря на то что передвижение этилена очень ограничено, изменение его концентрации в одной части растения может повлиять на его содержание в другой части. Так, увеличение содержания этилена в корнях может вызвать его накопление в верхушке побега. Механизм этого явления пока неясен.

5.2.7. Передвижение абсцизовой кислоты

Если мы обработаем экзогенной АБК зрелые листья или даже корни растения, то это может отразиться на развитии любой другой его части, например подавить рост апекса побега или камбия проводящих пучков. Такие наблюдения свидетельствуют о том, что, подобно гиббереллинам, АБК может свободно передвигаться по растению во всех направлениях. Опыты с ^{14}C -АБК также свидетельствуют об отсутствии полярности в передвижении АБК в отрезках стеблей и колеоптилей. Однако в отрезках корней АБК, по-видимому, движется в основном ба-

зипетально (т. е. от апекса корня). По некоторым данным, АБК синтезируется в корневом чехлике и, следовательно, благодаря базипетальному движению может попадать в зону растяжения корня и оказывать там свое физиологическое действие (с. 294).

5.3. ФИТОГОРМОНЫ И РАЗВИТИЕ ПОБЕГА

Рассмотрим теперь роль фитогормонов в регуляции некоторых сторон развития побега.

5.3.1. Рост стебля растяжением

Удивительно, что хотя влияние гормонов на рост растений растяжением исследовалось, быть может, наиболее интенсивно, до сих пор трудно нарисовать достаточно четкую картину общего механизма, с помощью которого осуществляется нормальная регуляция растяжения стебля. Несомненно, что фитогормоны всех пяти известных категорий могут влиять на рост стебля. Основная проблема заключается в том, чтобы понять, как они взаимодействуют, поскольку влияния различных гормонов в значительной степени перекрываются, дублируют или усиливают друг друга, а порой являются прямо противоположными. Кроме того, мы до сих пор не только не знаем точного места синтеза некоторых типов фитогормонов (в частности, цитокининов и абсцизовой кислоты), но и имеем весьма поверхностное представление о факторах, определяющих передвижение всех гормонов, за исключением ауксина. Поэтому при современном состоянии знаний мы вынуждены отдельно рассматривать данные по влиянию на рост стебля каждого класса гормонов, а уже затем на основании накопленной для всех гормонов информации попытаемся очень кратко сформулировать наши общие представления о регуляции роста стебля растяжением.

5.3.2. Ауксин и растяжение междоузлий

Как мы уже говорили в гл. 3, природный ауксин ИУК был открыт при изучении фототропизма и вытягивания этиолированных колеоптилей. В частности, на основании наблюдений, что удаление верхушки колеоптиля приводило к замедлению или прекращению вытягивания его остальной части и что обработка ИУК заменяла верхушку, был сделан вывод, что апикальная часть колеоптиля в норме является источником ауксина для вновь образующихся клеток и что ауксин необходим для растяжения этих клеток. Этиолированные колеоптили очень удобны для изучения влияния синтезируемого в их апексах ауксина на рост растяжением. Однако не следует забывать, что колеоптили

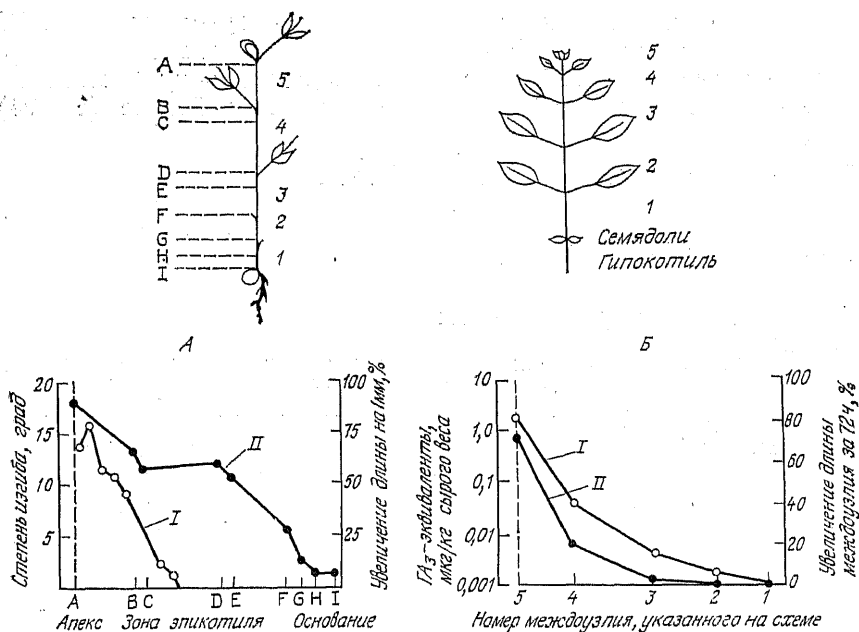


Рис. 5.6. А. Корреляция между скоростью роста (I) и содержанием ауксина (II) вдоль оси стебля проростка гороха (эпикотиль). Вверху: схематическое изображение 9-дневного зеленого проростка гороха «Alaska». Цифры означают номер междоузлия, а буквами отмечены участки, в которых определяли содержание ауксина. Внизу: распределение способного к диффузии ауксина и растяжение эпикотилья. (T. K. Scott, W. R. Briggs, Amer. J. Bot., 47, 492—499, 1960.)

Б. Связь между скоростью растяжения междоузлия (I) и содержанием гиббереллина (II) вдоль оси стебля молодого растения подсолнечника (*Helianthus annuus*). (R. L. Jones, I. D. J. Phillips, Plant Physiol., 41, 1381, 1966.)

представляют собой модифицированные цилиндрические листья и поэтому результаты, полученные на этой системе, необходимо с осторожностью применять к решению проблемы нормальной регуляции растяжения междоузлий.

Сейчас общепринято, что ауксин, участвующий в регуляции роста междоузлий, синтезируется в молодых растущих листьях (или в семядолях очень молодых проростков), откуда он поступает в стебель и передвигается по нему базипетально. К такому выводу пришли на основании довольно разрозненных данных, но эти данные включали идентификацию с помощью масс-спектрофотометрии ИУК в молодых листьях фасоли, а также измерение количества идентифицированного ауксина (преимущественно ИУК), диффундирующего из черешков листьев *Coleus* различного возраста (рис. 5.7).

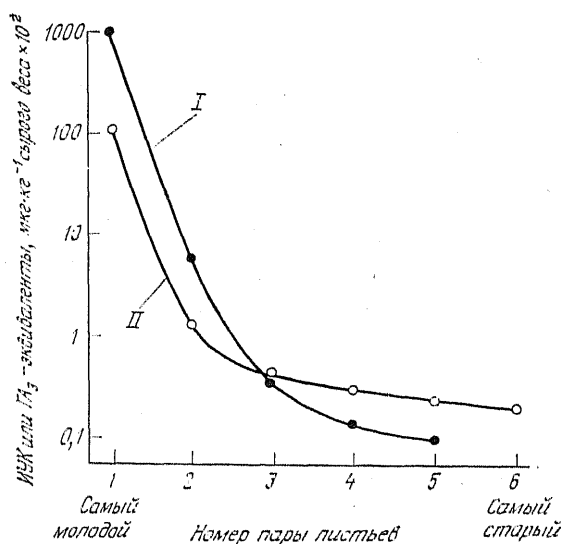


Рис. 5.7. Отток гиббереллина (I) и ауксина (II) из листьев разного возраста. Молодые растущие листья синтезируют и экспортируют в стебель большие количества этих фитогормонов, чем более старые листья. Данные по гиббереллину получены в опытах на подсолнечнике (R. L. Jones, I. D. J. Phillips, *Plant Physiol.*, 41, 1381—1386, 1966), а данные по ауксину — в опытах на *Coleus*. (R. H. Wetmore, W. P. Jacobs, *Amer. J. Bot.*, 40, 272—276, 1953.)

Было обнаружено, что в наиболее быстро растягивающихся тканях междоузлий способный к диффузии ауксин содержится в самой высокой концентрации (рис. 5.6, А); это соответствует представлению о необходимости ауксина для роста междоузлий растяжением.

Дальнейшее подтверждение участия ауксина в регуляции роста стебля получено в экспериментах на изолированных отрезках междоузлий. Такие отрезки лишены притока ауксина из апикальной части побега, и, следовательно, можно измерить влияние на них вполне определенных концентраций ауксина. Так, если поместить отрезки междоузлий на поверхность соответствующего раствора ауксина, то они растут быстрее, чем на воде. Кроме того, степень активации роста пропорциональна логарифму концентрации ауксина в растворе (рис. 5.8, А). Можно видеть, что стимуляция роста отрезков стебля усиливается с увеличением концентрации ауксина примерно до $5 \cdot 10^{-5}$ М. При дальнейшем увеличении концентрации действие ауксина ослабевает, и, наконец, при концентрациях 10^{-3} М и выше ИУК ингибирует растяжение изолированных отрезков стебля, так что рост на растворе ИУК протекает медленнее, чем рост контрольных отрезков, не обработанных ИУК. Следова-

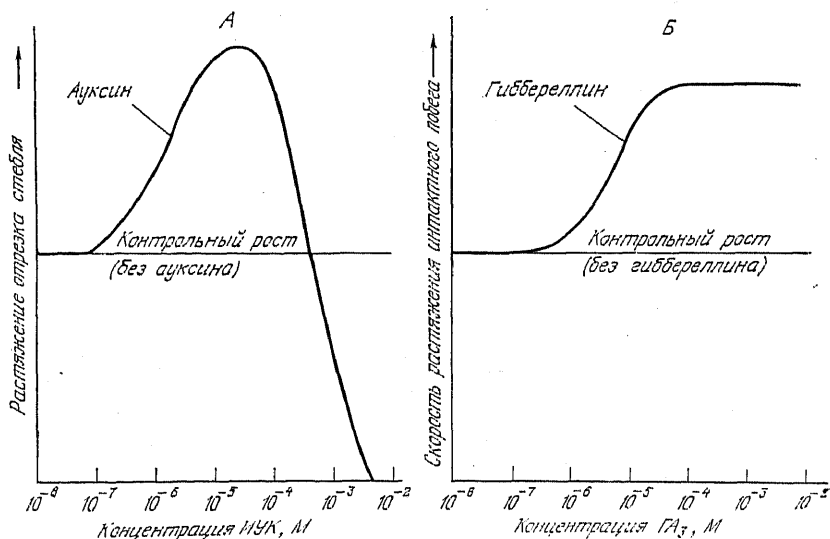


Рис. 5.8. А. Типичная концентрационная кривая влияния ауксина (3-индолил-уксусной кислоты) на растяжение отрезков стеблей или колеоптилей. Б. Типичная концентрационная кривая влияния гиббереллина (гибберелловой кислоты, ГА₃) на растяжение интактных побегов.

тельно, мы можем сказать, что существует *оптимальная* концентрация ауксина, при которой растяжение клеток стебля происходит наиболее интенсивно. Более высокие концентрации являются *супраоптимальными*, а более низкие — *субоптимальными*. У некоторых видов, например у гороха, для подавления роста отрезков из выращенных на свету (зеленых) стеблей требуются гораздо более высокие концентрации ауксина, чем для подавления роста отрезков из этиолированных стеблей.

Поскольку обработка (например, опрыскивание) ауксином целых побегов редко вызывает их вытягивание, можно думать, что из верхушки стебля в растягивающиеся междоузлия обычно поступает достаточно ауксина для поддержания его оптимальной для данной ткани концентрации. Возможные причины ингибирования роста ауксинами мы обсудим ниже (с. 182).

5.3.3. Гиббереллины и растяжение междоузлий

Разного рода данные свидетельствуют о том, что наряду с ауксинами в регуляции роста растительных тканей растяжением участвуют гиббереллины. Наиболее яркой и характерной ответной реакцией растений, обработанных таким гиббереллином, как гибберелловая кислота, является вытягивание стебля, так что обработанный экземпляр становится выше нормального. Эта

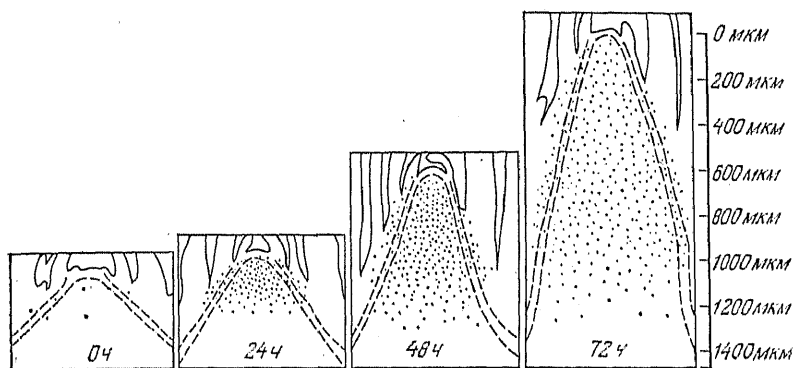


Рис. 5.9. Стимулирующее влияние ГА₃ на меристематическую активность в субапикальной зоне розеточного растения *Samolus parviflorus*. (R. M. Sachs, C. F. Bretz, A. Lang. Amer. J. Bot., 46, 376—384, 1959.) Каждая точка обозначает вступившую в митоз клетку на продольном срезе апикальной области стебля. 25 мкг ГА₃ было внесено 0, 24, 48 и 72 ч тому назад.

ответная реакция обычно обусловлена вытягиванием междоузлий, а не увеличением их числа. Длина междоузлий увеличивается за счет клеточного растяжения и деления. Так, обработка гиббереллином розеточных и высокорослых растений с облиственным стеблем может вызвать ускоренное растяжение уже существующих клеток междоузлий и увеличение числа клеток в каждом междоузлии главным образом в результате активации митозов в субапикальной зоне стебля (рис. 5.9).

Такие ретарданты, как сайкосел, АМО-1618 и фосфон D (с. 96), ингибирующие биосинтез эндогенного гиббереллина, подавляют скорость клеточного деления в субапикальной меристеме. Это их влияние может быть снято одновременной обработкой экзогенным гиббереллином (рис. 5.10).

Степень вытягивания стеблей в ответ на действие гиббереллина меняется в зависимости от вида и разновидности растения. Как уже упоминалось в гл. 3 (с. 90), сильнее всего реагируют на гормон генетические карлики. После обработки гиббереллином они вытягиваются так сильно, что часто догоняют по высоте соответствующие высокорослые разновидности (рис. 3.4). Высокие разновидности тех же видов реагируют на гиббереллин очень слабо или вообще не реагируют. Если при действии ауксинов на растяжение отрезков стебля наблюдают типичную концентрационную зависимость (рис. 5.8, А), то в случае гиббереллинов редко обнаруживают их супраоптимальные концентрации, подавляющие растяжение, и даже очень высокие концентрации экзогенной гибберелловой кислоты могут все еще вызывать максимальный ростовой ответ (рис. 5.8, Б). Причины этого

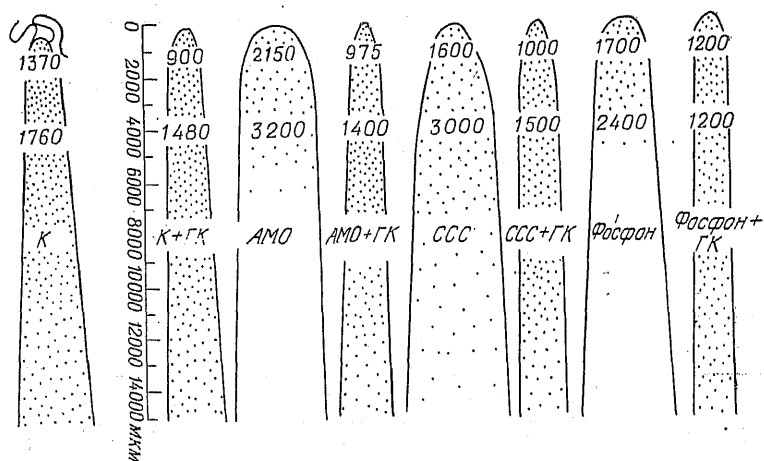


Рис. 5.10. Частота и распределение митозов в субапикальной зоне стеблей *Chrysanthemum morifolium* после обработки гибберелловой кислотой (ГК), ретардантами (АМО, ССС и фосфон D) или сочетанием ГК с ретардантами. Крайнее слева — контрольное необработанное растение (K). (R. M. Sachs, A. M. Kofranek, Amer. J. Bot., 50, 772—779, 1963.)

Каждая точка отражает одну митотическую фигуру на продольном срезе толщиной 60 мкм. Числа на расстоянии 1 и 4 мм ниже апекса обозначают поперечные диаметры сердцевин на этих уровнях в микрометрах. Ретарданты сильно снижали митотическую активность, но усиливали рост в толщину. ГК увеличивала митотическую активность в основном на расстоянии 6 мм от апекса и ниже, но подавляла рост в толщину. Таким образом, ретарданты и ГК являются антагонистами по своему действию.

различия между концентрационными кривыми действия ауксина и гиббереллина не вполне ясны, но супраоптимальные концентрации ауксина могут вызывать усиленное образование этилена, особенно у двудольных (рис. 5.13), и возможно, что эти дополнительные количества этилена подавляют рост. Вместе с тем показано, что гиббереллины очень по-разному влияют на образование этилена. В большинстве исследованных случаев гиббереллин слегка усиливал образование этилена, в других случаях он или не влиял, или даже слегка снижал содержание этилена.

Различия в ответной реакции отдельных разновидностей растений на гиббереллин могут быть связаны с количеством эндогенного гиббереллина в тканях. Однако для некоторых видов, таких, как *Pisum sativum*, получены весьма противоречивые результаты. Одни исследователи обнаружили, что карлики содержат гиббереллинов меньше, чем высокие разновидности, а другие не смогли обнаружить никаких количественных различий. Следовательно, пока нельзя сделать вывод, что карликовость всегда связана с нарушением синтеза гиббереллина. Для решения этого вопроса необходимы дальнейшие исследования.

Можно экстрагировать гиббереллины из различных органов и сравнить их количество. Можно также собрать гиббереллины, выделяющиеся из органов, методом диффузии в агар, который ранее использовали для изучения ауксинов. Такие работы показали, что апикальная почка побега и молодые листья синтезируют гиббереллины, откуда они поступают в стебель (рис. 5.7). Кроме того, была выявлена положительная корреляция между скоростью роста междоузлий разного возраста и содержанием в них гиббереллинов у подсолнечника *Helianthus annuus* (рис. 5.6, Б). Так, наибольшая концентрация эндогенных гиббереллинов, как и ауксинов, была обнаружена в наиболее быстро растягивающихся зонах стебля. Это служит довольно веским доводом в пользу участия гиббереллинов в нормальной регуляции роста стебля растяжением. Цитокинины, возможно, регулируют скорость клеточного деления в апексе стебля, но данные относительно прямого влияния этого класса гормонов на растяжение междоузлий отсутствуют.

5.3.4. Взаимодействие ауксинов и гиббереллинов в регуляции растяжения стебля

После того как были открыты гиббереллины и физиологи растений поняли, что они являются природными гормонами высших растений (см. гл. 3), начались исследования по взаимодействию гиббереллинов и ауксинов при регуляции растяжения стеблей и колеоптилей.

Было обнаружено, что опрыскивание интактных растений гиббереллином усиливало растяжение междоузлий, тогда как такая же обработка ауксином, судя по полученным ранее данным, редко стимулировала растяжение междоузлий. Противоположная ситуация наблюдается, если отрезать кусочки междоузлий или колеоптилей и поместить их плавать на растворы: ауксины стимулируют растяжение отрезков междоузлий или колеоптилей, а гиббереллины влияют слабо или вообще не влияют. Однако если отрезки поместить на смесь ауксина и гиббереллина, то они растягиваются сильнее, чем только на ауксине (рис. 5.11). Другими словами, для того чтобы гиббереллины могли оказать свое характерное действие — вызвать вытягивание стебля, необходимо присутствие также и ауксина. Следовательно, стимуляция гиббереллинами роста интактных растений является результатом взаимодействия между экзогенно вводимым гиббереллином и природными эндогенными ауксинами. В связи с этими наблюдениями было высказано предположение, что гиббереллины оказывают свое физиологическое действие через посредство ауксинов. Так, имеются надежные данные о том, что обработка гиббереллинами приводит к повышению уровня эндогенных ауксинов, влияя либо на биосинтез, либо на разрушение ауксина.

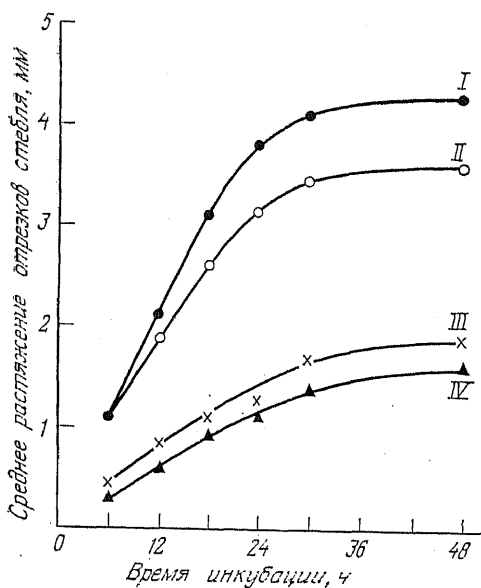


Рис. 5.11. Влияние ауксина (ИУК, $10 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$) и гиббереллина (ГАЗ, $10 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$) на растяжение изолированных отрезков междоузлий гороха. (P. W. Brian, H. G. Hemming, Ann. Bot., N. S., 22, 1—17, 1958.)

Ауксин (II) гораздо сильнее влиял на растяжение отрезков стеблей, чем гиббереллин (III), но в сочетании друг с другом (I) эти гормоны оказывали более эффективное действие, чем один ауксин. При взаимодействии экзогенных ауксина и гиббереллина иногда проявлялась аддитивность, а иногда синергизм, IV — контроль (без добавления гормонов).

Однако сейчас ясно, что гиббереллины как класс фитогормонов имеют самостоятельное значение. Если бы влияние гиббереллинов было связано только с их действием на активность ауксинов, то можно было бы ожидать, что оба типа гормонов вызывали бы одинаковые эффекты. Влияние гиббереллинов и в самом деле часто схоже с влиянием ауксинов (например, они вызывают партенокарпию плодов, стимулируют активность камбия), но можно привести и много других примеров, когда гиббереллины оказывают не свойственное ауксинам влияние (например, стимулируют вытягивание стеблей интактных растений, пробуждают почки или семена из состояния покоя, стимулируют рост мезофилла). В некоторых случаях гиббереллины оказывают противоположное ауксинам действие (например, ауксины способствуют укоренению стеблевых черенков, а гиббереллины подавляют его).

Ауксины и гиббереллины взаимодействуют не только при регуляции роста растяжением, но и во многих других случаях. Например, комбинация ауксина и гиббереллина часто более эффективно, чем каждый из них в отдельности, вызывает партенокарпию плодов или усиливает активность камбия (с. 187).

5.3.5. Этилен и растяжение междоузлий

В последние годы накопились интересные данные о влиянии этилена на рост стебля. У большинства видов обработка стеблей или изолированных междоузлий этиленом подавляет вы-

тягивание клеток (рис. 5.12), но ускоряет их изодиаметрическое растяжение. Такие обработанные этиленом междоузлия становятся короче и толще контрольных. Это действие этилена похоже на влияние супраоптимальных концентраций ауксинов. Возможно, что высокие концентрации ауксина не сами ингибируют растяжение стебля, а стимулируют синтез этилена в тканях растения, а этилен в свою очередь подавляет растяжение клеток (рис. 5.13).

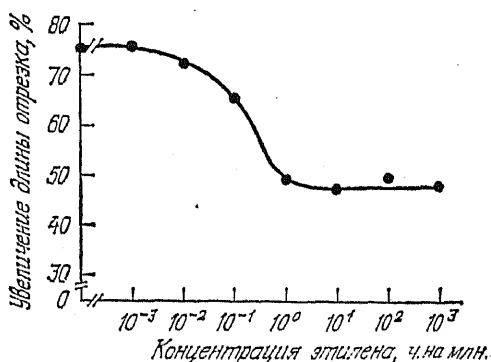


Рис. 5.12. Подавление этиленом растяжения изолированных отрезков стебля гороха. (S. P. Burg, *Regulateurs Naturels de la Croissance Végétale*, Edition de la Rech. Sci., 1964, 718—724.)

Ингибирующее действие этилена на растяжение стебля в темноте сильнее, чем на свету. Причины этого неясны, но на высвобождение этилена, по-видимому, косвенно влияет красный и дальний красный свет при участии механизма, опосредованного фитохромом. Таким образом, условия освещения, очевидно, не безразличны для оказываемого этиленом воздействия, так как ответная реакция на данную концентрацию экзогенного этилена будет неодинаковой в зависимости от преобладающей в ткани концентрации эндогенного этилена.

Особый случай представляет собой регуляция этиленом роста стебля у проростков, у которых верхняя часть стебля имеет форму петли (рис. 8.5). Петля, по-видимому, предназначена для прохождения сквозь почву нежных апикальных тканей побега и возникает в результате более быстрого растяжения наружной выгнутой стороны по сравнению с внутренней вогнутой. Освещение красным светом приводит к распрямлению петли за счет выравнивания скоростей роста обеих сторон стебля. Дальний красный свет снимает действие красного света. Обработка ауксином или этиленом растущих на красном свету проростков приводит к подавлению роста тканей на внутренней стороне стебля и к увеличению изгиба петли. Было обнаружено, что в обоих случаях, при распрямлении петли на свету и при ее закручивании под влиянием ауксина, этилен является промежуточным звеном в действии этих факторов, а именно обработка как дальним красным светом, так и ауксином вызывает высвобождение этилена в апикальной части побега, и этилен подавляет растяжение внутренней стороны петли. Красный свет ингибирует высвобождение этилена и приводит к распрямлению побега. Однако механизм распрямления и образования петли, оче-

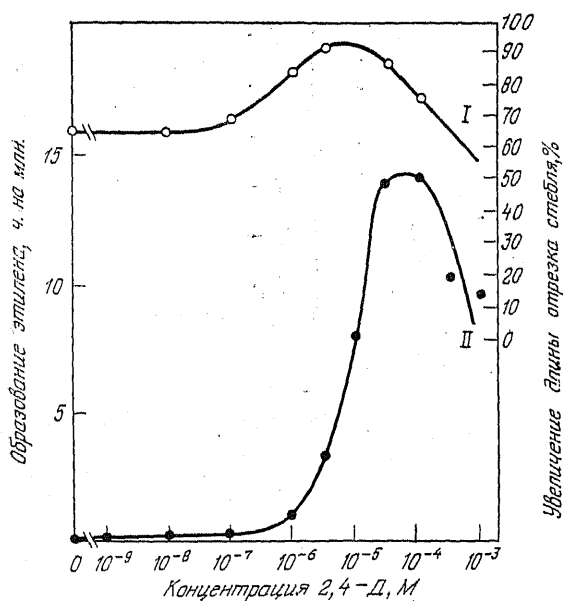


Рис. 5.13. Влияние различных концентраций ауксина, 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д), на растяжение (I) и синтез этилена (II) в изолированных отрезках hypocotyls сои. (R. E. Holm, F. B. Abeles, *Planta*, 78, 293, 1967.) Обратите внимание, что оптимальной для растяжения была концентрация 2,4-Д около 10^{-5} М, а при более высоких концентрациях 2,4-Д скорость образования этилена сильно увеличивалась, а скорость растяжения уменьшалась. Создается впечатление, что у двудольных растений подавление роста высокими концентрациями ауксина опосредовано их действием на синтез этилена и ингибиторным влиянием последнего. У однодольных может наблюдаться другая ситуация.

видно, более сложный и пока еще не раскрыт полностью. Например, известно, что гиббереллины также влияют на образование пелти и что влияние света не исчерпывается его действием на продукцию этилена.

У некоторых растений, главным образом у видов, растущих под водой (например, рис и *Callitriche*), растяжение междоузлий и корней не подавляется, а в присутствии этилена происходит быстрее. Такая реакция водных растений на этилен могла возникнуть как адаптация к гораздо меньшей скорости диффузии этилена в воде по сравнению со скоростью диффузии в воздухе. В результате этого в водной среде удаление выделяемого этилена от поверхности растения происходит гораздо медленнее и в погруженных тканях растения может возникнуть высокая концентрация газа. Чтобы справиться с этой проблемой, водные растения в процессе эволюции выработали иные ответные реакции на этилен и изменили свою чувствительность к гормону.

Очевидно, что при регуляции роста стебля растяжением этилен взаимодействует с другими природными гормонами. Однако для того чтобы полностью раскрыть сложный и чувствительный механизм регуляции, потребуется еще много усилий.

5.4. ГОРМОНЫ И РАЗВИТИЕ ПРОВОДЯЩЕЙ ТКАНИ В СТЕБЛЕ

В первом разделе этой книги мы говорили о том, что апикальная меристема побега постоянно дает начало новым тканям продольной оси побега и таким латеральным органам, как листья и боковые побеги. Способность к увеличению диаметра продольной оси также сохраняется в течение всей жизни растения, что, несомненно, важно для механической прочности особенно тех растений, которые живут сравнительно долго и достигают значительной высоты.

Утолщение стеблей и корней происходит за счет деления клеток, роста растяжением и дифференцировки. У двудольных растений и у большинства голосеменных радиальный рост стеблей и корней обеспечивается активностью *латеральной меристемы*. Обычно различают два типа латеральной меристемы: *сосудистый камбий* и *пробковый камбий*, или *феллоген*. У тех видов однодольных растений, которые в какой-то степени растут в толщину, клетки камбия также играют определенную, хотя и более ограниченную роль.

Мы уже видели (с. 58), что развивающиеся почки и листья стимулируют развитие проводящей ткани в лежащих ниже междоузлиях. Кроме того, результаты опытов, проведенных на культуре каллуса цикория (*Cichorium intybus*), показали, что прививка на верхушку каллуса почки приводит к развитию от основания почки проводящей ткани (рис. 5.14). Было обнаруже-

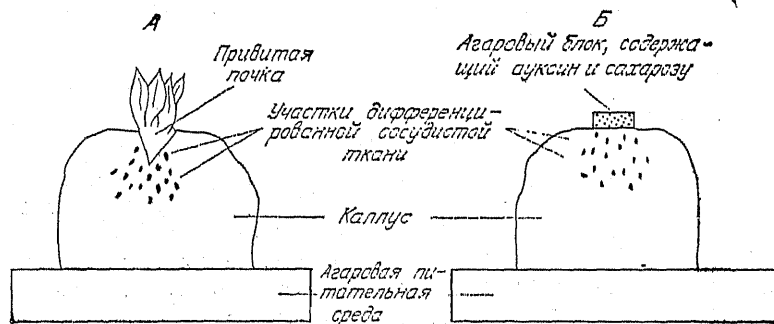


Рис. 5.14. Дифференцировка проводящей ткани в стерильной культуре каллуса. А. Дифференцировка проводящей ткани в каллусе вызвана присутствием привитой почки того же вида. (По Wetmore, Sorokin, 1955.) Б. Образование проводящей (сосудистой) ткани в таком же каллусе вызвано агаровым блоком, содержащим ауксин и сахарозу. (По Wetmore, Rier, 1963:)

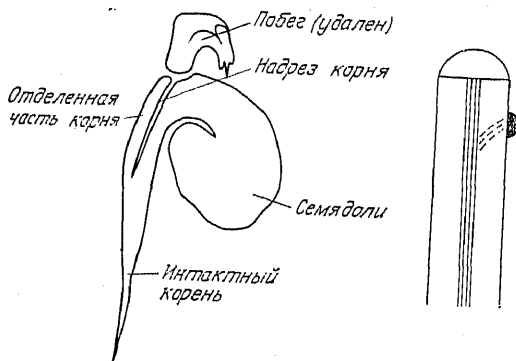


Рис. 5.15. Индуцированное ауксином образование ксилемы в корне гороха. (F. Sachs, Ann. Bot., 32, 781—790, 1968.)

Слева. 3-дневный проросток, у которого с помощью надреза отделяли часть корня, используемого для эксперимента. Справа. Вид спереди отделенного корня. ИУК наносили сбоку, в месте, обозначенном черным выступом. Штриховые линии — расположение новообразованной ксилемы в коре.

но, что выделяющийся из почки и вызывающий формирование проводящей ткани фактор способен проходить через слой целлофана, помещенный между почкой и находящейся под ней тканью каллуса. Позднее было показано, что ауксины, например ИУК, оказывают на каллус такое же влияние, как имплантированная почка. ИУК, особенно в сочетании с сахарозой, может вызвать в каллусах различного типа образование камбия, а также ксилемы и флоэмы. Длительное воздействие ИУК на стебли и корни гороха вызывает образование проводящей ткани даже в коре (рис. 5.15). Эти наблюдения позволяют предположить, что стимулирующее влияние развивающихся листьев на инициацию проводящей ткани может быть частично опосредовано ИУК, образующейся в листьях.

Такой вывод подтверждают наблюдения за регенерацией проводящей ткани после поранения. Если повредить один из проводящих пучков *Coleus* поперечным надрезом, то в сердцевине возникает новый тяж, соединяющий верхний и нижний концы перерезанного пучка (рис. 5.16). Регенерация происходит в базипетальном направлении, т. е. она начинается от верхнего края пореза и идет по сердцевине диагонально от клетки к клетке, огибая место повреждения. Регенерирующий тяж возникает путем дифференцировки паренхимных клеток сердцевины в ксилему и флоэму, а затем начинается клеточное деление и образуется камбий. Было показано, что для регенерации тяжа важно присутствие листа на стебле выше пореза. Влияние листа можно заменить введением ауксина через пенек черешка. Следовательно, можно предположить, что ауксин стимулирует

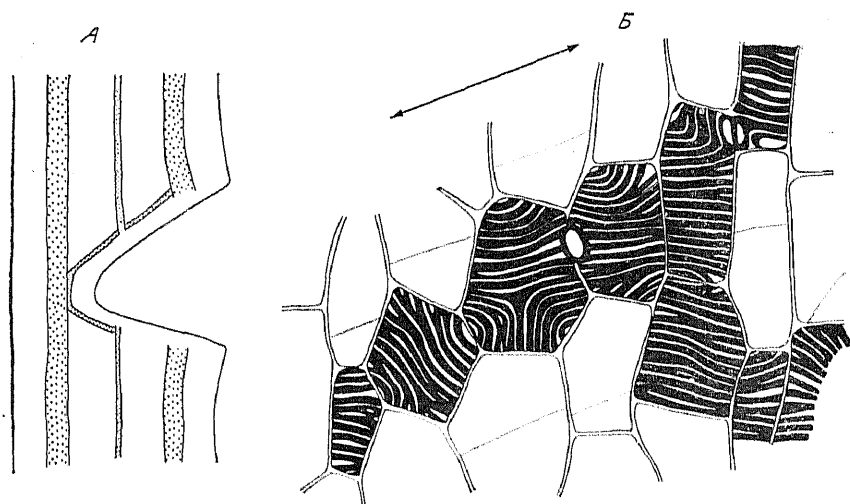


Рис. 5.16. Регенерация сосудов у *Coleus*. (E. W. Sinnott, R. Bloch, Amer. J. Bot., 32, 151, 1945.)

А. Восстановление связи между несколькими проводящими пучками в стебле.
Б. Дифференцировка клеток паренхимы в сеть клеток ксилемы в развивающемся проводящем тяже. Стрелка показывает направление развития тяжа.

дифференцировку ксилемы и флоэмы и образование камбияльного слоя в клетках сердцевинны.

Элементы ксилемы образуются путем развития сети лигнифицированных утолщений на стенках клеток сердцевинны. На ранних стадиях дифференцировки этих клеток в поверхностных слоях цитоплазмы появляются гранулярные тяжи, которые, как показано, содержат микротрубочки, расположенные параллельно будущим утолщениям клеточной стенки. Эти тяжи намечают расположение лигнифицированных полос, которые позже разовьются на клеточной стенке. Кроме того, утолщения, появившиеся на стенках соседних клеток, расположены строго друг против друга. Это является сильным доводом в пользу так называемой *гомеогенетической индукции*, когда дифференцировка одной клетки может вызывать аналогичные изменения в смежной с ней клетке. Как происходит такая гомеогенетическая индукция, неизвестно, но она, возможно, обусловлена действием не только ИУК, но и других факторов.

5.4.1. Регуляция активности камбия в стеблях

Помимо стимуляции развития проводящей ткани гормоны, очевидно, также играют роль в регуляции активности камбия. То, что ауксин стимулирует деление клеток камбия, впервые

было показано в опытах, проведенных в 1935 г. Сноу на «декапитированном» (т. е. с удаленной апикальной почкой) подсолнечнике (*Helianthus annuus*). У таких декапитированных растений пучковый камбий молодых междоузлий не делился, а межпучковый камбий не образовывался. Другими словами, удаление апикальной почки препятствует образованию вторичной проводящей ткани (ксилемы и флоэмы). Однако если через поверхность среза декапитированного растения вводили ауксин, то нормальная активность камбия восстанавливалась и наблюдалось вторичное утолщение стебля. Следовательно, и образование камбия, и активность уже сформированной ткани зависят от поступления ауксина из апикальной почки.

Вместе с тем ряд исследователей получили результаты, показывающие, что не всегда закладка и активность камбия регулируются ауксином из молодых листьев. Например, серия опытов, проведенных Зиберсом в начале 70-х годов, показала, что у декапитированных молодых гипокотилей *Ricinus communis* или даже в изолированных отрезках гипокотилей образование межпучкового камбия все же происходит. Автор пришел к заключению, что в самом гипокотиле присутствуют фитогормоны в количестве, достаточном для заложения камбия. Однако добавление ИУК, ГА₃ или кинетина приводило в опытах Зиберса к ускоренному развитию уже заложенного камбия, что свидетельствует об участии этих классов фитогормонов в нормальной регуляции активности камбия гипокотыля. Из этих гормонов ГА₃ оказывала наибольший стимулирующий эффект на развитие и активность камбия, особенно если при этом добавляли сахар в виде сахарозы. Эти и сходные данные, полученные другими исследователями, показывают, что нельзя считать апикальную почку единственным источником ауксина для регуляции заложения и активности камбия в стеблях травянистых растений.

Сравнительно больше известно о факторах, регулирующих активность камбия древесных растений средней полосы. Этим растениям свойственны сезонные изменения в активности клеточного деления сосудистого камбия как в побеге, так и в корне, и характер дифференцировки производных камбия различается в зависимости от времени года. Зимой камбий таких деревьев не активен, а весной снова начинается клеточное деление и новообразованные клетки дифференцируются в ксилему и флоэму.

У покрытосеменных с рассеяннопоровой древесины (у которых все сосуды ксилемы имеют одинаковый диаметр независимо от того, когда в течение вегетационного периода они возникли), таких, как явор (*Acer pseudoplatanus*), деление клеток камбия весной начинается непосредственно под набухающими почками и затем медленно распространяется *вниз*, т. е. базипе-

тально, по ветвям разного порядка, по стволу и, наконец, в корни. Акропетальная волна активации камбия наблюдается только в корнях. Таким образом, активация камбия соответствует направлению полярного передвижения ауксина в стеблях и корнях. Известно, что весной из молодых, распускающихся почек в стебель поступает довольно много ауксина. Поэтому представляется вероятным, что пробуждение камбиальной активности у видов с рассеяннопоровой древесиной является ответной реакцией на ауксин, поступающий из почек. Это предположение подтверждается различиями рода данными. Так, удаление почек препятствует развитию активности камбия, а введение ауксина через верхний конец веточки с удаленной почкой приводит к нормальному базипетальному распространению активности камбия.

Ауксин регулирует не только активацию камбия, но и дифференцировку его производных. Известно также, что ауксин является не единственным гормональным регулятором активности камбия и дифференцировки проводящей ткани. Наиболее просто и наглядно это было показано в опытах, в которых ранней весной до распускания почек брали веточки растений с рассеяннопоровой древесиной, удаляли с них почки и через верхнюю раневую поверхность вводили в эти сегменты стебля ростовые гормоны в ланолиновой пасте или в виде водного раствора. Примерно через 2 нед приготавливали срезы стебля для наблюдения за активностью камбия. Без введения гормонов клетки камбия не делились, но в варианте с ИУК можно было наблюдать деление клеток камбия и дифференцировку новых элементов ксилемы, хотя оба эти процесса шли не очень активно (рис. 5.17). При введении только GA_3 клетки камбия делились, но производные клетки на его внутренней стороне (ксилема) не дифференцировались и сохраняли протоплазму. Однако при тщательном наблюдении можно было заметить, что в ответ на действие GA_3 образуется некоторое количество новой флоэмы с дифференцированными ситовидными трубками. Одновременная обработка ИУК и GA_3 приводила к активации клеточного деления в камбии, и образовывались нормально дифференцированные ксилема и флоэма. Измеряя толщину новой ксилемы и флоэмы, можно количественно подойти к изучению взаимодействия ауксина, гиббереллина и других регуляторов (рис. 5.18). Такие опыты позволяют предположить, что концентрация ауксина и гиббереллина регулирует не только скорость клеточного деления в камбии, но и влияет на соотношение инициальных клеток ксилемы и флоэмы. Сравнительно высокая концентрация ауксина благоприятствует образованию ксилемы, тогда как при высоких концентрациях гиббереллина образуется больше флоэмы.



Рис. 5.17. Влияние ауксина и гиббереллина на активность камбия в ветках тополя (*Populus robusta*). А. Ветка, обработанная гибберелловой кислотой (GA_3). Б. Ветка, обработанная 3-индолилуксусной кислотой (ИУК). В. Ветка, обработанная ИУК и GA_3 одновременно.

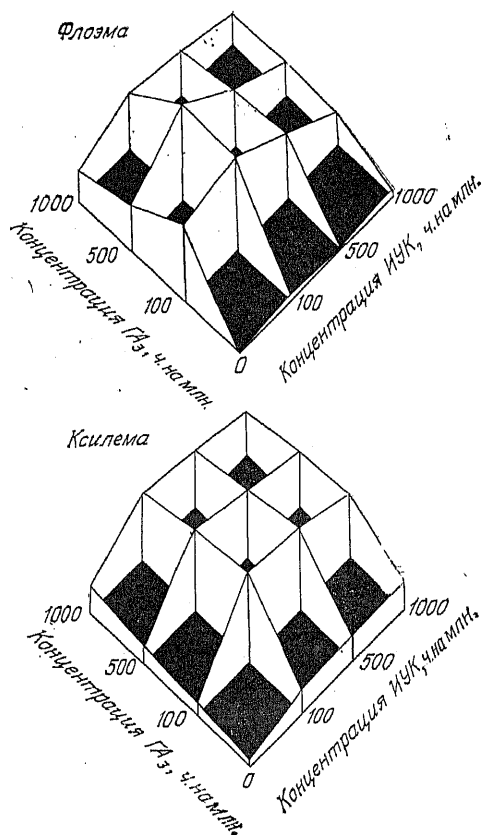


Рис. 5.18. Количественное выражение влияния ИУК и GA_3 на активность камбия тополя. (Р. Ф. Wareing, С. Hanney, J. Digby in *The Formation of Wood in Forest Trees*, Academic Press, New York, 323—344, 1964.) Различные комбинации обоих гормонов в указанных концентрациях вводили с помощью ланолиновой пасты. На вертикальной оси отложена ширина новых ксилемы и флоэмы в единицах окулярной шкалы.

Такие данные могли бы навести на мысль, что дифференцировка производных камбия в ксилему на его внутренней стороне и во флоэму на внешней стороне определяется различиями в соотношении концентрации ауксина и гиббереллина по обе стороны от камбия. Однако к совершенно другому выводу приводят нас опыты Зиберса на молодых проростках *Ricinus communis*. У этого вида, как и у многих других травянистых растений, в основной ткани (межпучковая ткань), разделяющей первичные проводящие пучки, появляются зоны камбия, соединяющиеся с камбием пучков, так что образуется сплошное камбиальное кольцо.

Зиберс вырезал из молодых гипокотилей маленькие кусочки межпучковой ткани прежде, чем в этой ткани появлялись какие-либо признаки образования межпучкового камбия. Эти кусочки он перевертывал и снова вставлял в гипокотили. Последующее исследование показало, что в таких перевернутых кусочках ткани закладывался межпучковый камбий, но тип дифференцировки был необычен, так как ксилема образовывалась *снаружи*, а флоэма *внутри* от камбия. Кроме того, этот межпучковый камбий не соединялся с камбием первичных проводящих пучков. Эти наблюдения показали, что, хотя исходное цельное кольцо прокамбия в верхушке побега (с. 57—58) разделяется на отдельные тяжи (каждый из которых развивается в первичный проводящий пучок), зоны между тяжами могут легко превращаться в камбий, даже если клетки этих зон морфологически неотличимы от окружающей основной ткани. Помимо этого, нормальный характер дифференцировки производных камбия (т. е. образование ксилемы внутри и флоэмы снаружи), по-видимому, определяется потенциями самих клеток, а не внешними факторами, такими, как гормоны, хотя последнее, особенно ИУК и гиббереллины, необходимы для деления клеток камбия и их последующей дифференцировки.

О роли цитокининов в регуляции активности камбия известно немного, но работа, проведенная на изолированных отрезках стеблей гороха, показала, что эти гормоны также могут стимулировать деления клеток в камбии и усиливать лигнификацию развивающихся клеток ксилемы. Обработка растений этиленом и абсцизовой кислотой влияет на активность камбия, но пока нет данных об участии этих веществ в естественном процессе регуляции деления камбиальных клеток и дифференцировки проводящей ткани.

Известно, что на активность камбия влияют также различные негормональные факторы, например доступность сахаров и воды и условия внешней среды, например температура. Это легло в основу «анализа годовых колец» при датировании в археологических исследованиях и для изучения длительных колебаний климатических условий.

5.5. ГОРМОНЫ И РАЗВИТИЕ ЛИСТЬЕВ

После заложения листа в апексе побега начинаются процессы его роста и развития, включающие клеточное деление, рост растяжением и дифференцировку (см. гл. 2). Естественно думать, что эти процессы находятся под контролем фитогормонов, одним из которых, очевидно, является ауксин. Однако нельзя сказать, что действие ауксина связано со всеми аспектами роста листа. Было обнаружено, что ауксины в зависимости от их концентрации могут стимулировать или ингибировать рост центральной и боковых жилок, но мало влияют на ткани мезофилла между жилками. В настоящее время гормональная регуляция роста листа изучена мало. Известно только, что ауксин, по-видимому, необходим для роста жилок.

Было высказано предположение, что рост мезофилла находится под контролем гормонов, синтезируемых в корнях. Так, обнаружено, что если, например, у растений хрена (*Amoracea lapathifolia*) постоянно обрезать кончики молодых корней, как только они образуются, то ткань между жилками листа не разовьется (рис. 5.19). Такой плохой рост мезофилла при подрезке корней можно отчасти объяснить, если вспомнить, что из корней в стебель поступают цитокинины и гиббереллины.

Обработка некоторых видов растений (например, *Triticum* и *Phaseolus*) гибберелловой кислотой активизирует рост листьев. Другие виды (например, *Pisum sativum*) реагируют на обработку гиббереллином иначе; гиббереллин угнетает у них рост мезофилла. У тех видов, у которых обработка гиббереллином стимулирует рост листьев, степень стимуляции примерно одинакова для мезофилла и тканей жилок. Изолированные листья или высежки из них, помещенные на поверхность раствора гиббереллина или цитокинина, также растягиваются за счет роста мезофилла. Итак, в целом можно сказать, что гиббереллины и цитокинины отличаются от ауксинов по своему действию на



Рис. 5.19. Влияние многократного отрезания кончиков корня на рост мезофилла листьев хрена (*Amoracea lapathifolia*). Наиболее мелкие и глубоко изрезанные листья — это самые молодые листья. (Растение выращено д-ром J. Dore и сфотографировано J. Champion.)

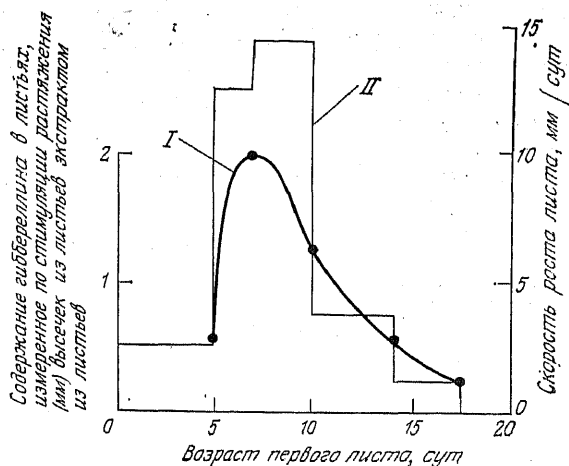


Рис. 5.20. Связь между скоростью роста (гистограмма II) и содержанием гиббереллина (кривая I) в первом листе карликовой фасоли (*Phaseolus vulgaris*). Максимальное содержание гиббереллина совпадало с наибольшей скоростью растяжения листа в возрасте 7 сут. (A. W. Wheeler, J. exp. Bot., 11, 217—226, 1960.)

рост листьев, а именно первые два класса гормонов могут стимулировать рост мезофилла, а ауксины не оказывают такого влияния. Отсюда следует, что эндогенные гиббереллины и цитокинины важны в регуляции роста листьев. Так, гиббереллины обычно обнаруживают в листьях, причем их концентрация тесно связана со скоростью роста листа, т. е. молодые быстро растущие листья содержат больше гиббереллинов, чем более старые листья (рис. 5.20). Следовательно, природные гиббереллины могут участвовать в регуляции роста мезофилла. Мы очень мало знаем об эндогенных цитокинах в листьях, хотя в некоторых работах было показано, что синтетические цитокинины могут замещать корневую систему в обеспечении нормального роста листа.

Поздняя стадия развития листа злаков заключается в раскручивании листовой пластинки, т. е. у таких листьев растяжение как в продольном, так и в поперечном направлениях происходит тогда, когда лист скручен в цилиндр адаксиальной стороной внутрь. Физиологическую основу этого процесса раскручивания, регулируемого фитохромом, мы рассмотрим более подробно в гл. 8.

Мы уже упоминали, что влияние фитохрома иногда опосредовано изменениями в высвобождении этилена, а экзогенный этилен может подавлять растяжение листьев. Поэтому нельзя исключать, что и эндогенный гормон участвует в регуляции ро-

ста и дифференцировки листа, хотя, конечно, в пользу такого представления пока получено очень мало данных.

Итак, рост листьев может регулироваться ауксинами, гиббереллинами, цитокининами и этиленом. На него также могут влиять условия питания и, очевидно, другие, неизвестные гормональные факторы. Однако следует помнить, что в настоящее время наши знания по этой проблеме скудны и фрагментарны.

5.6. ГОРМОНЫ И РАЗВИТИЕ КОРНЯ

О внутреннем механизме регуляции развития корней мы знаем гораздо меньше, чем о регуляции роста стеблей и coleoptилей. Просто по аналогии с ситуацией, наблюдаемой в coleoptилях и стеблях, полагают, что ауксины и гиббереллины синтезируются в апикальной части корня, а затем передвигаются базипетально в зону растяжения, удаленную от кончика на несколько миллиметров, где они регулируют рост и дифференцировку. Однако в общем нет твердых экспериментальных оснований считать, что рост стеблей и корней регулируют одинаковые гормональные системы.

5.6.1. Рост корня растяжением

Удаление апикальной почки стебля или верхушки coleoptиля приводит к сильному подавлению или полному прекращению растяжения лежащих ниже участков. Удаление же кончика корня, напротив, не препятствует растяжению новообразованных клеток корня. В действительности иногда обнаруживали, что удаление кончика корня приводило к временному *ускорению* растяжения молодых клеток корня. На первый взгляд кажется, что кончик корня только подавляет рост клеток в зоне растяжения, но на самом деле это не совсем так.

Многие годы считалось, что кончик корня является местом синтеза ауксина и что ауксин движется в корне базипетально (т. е. от кончика корня) и стимулирует рост растяжением. Тщательно проведенный современный анализ, использующий газожидкостную хроматографию в сочетании с масс-спектроскопией, показал, что ИУК, безусловно, содержится в корнях, хотя в крайне низких в сравнении с тканями побега концентрациях. Корни и в самом деле очень чувствительны к ауксинам. Так, если концентрация ауксина, оптимальная для растяжения стеблей и coleoptилей, обычно составляет примерно $2 \cdot 10^{-5}$ М (рис. 5.8, А), то соответствующее значение для корней приблизительно 10^{-8} М (рис. 5.21). Другими словами, корни примерно в 2000 раз более чувствительны к экзогенному ИУК, чем coleoptили или стебли. Кроме того, как это видно из рис. 5.21, эк-

зогенный ауксин в значительно меньшей степени стимулирует растяжение корней, чем растяжение стеблей и coleoptiles.

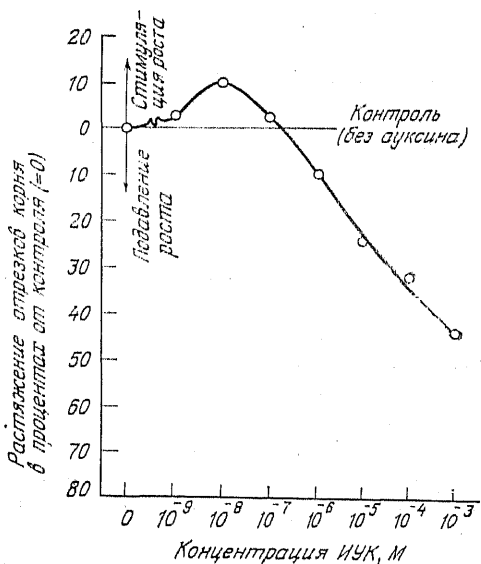
Содержащийся в корнях ауксин, конечно, не обязательно синтезируется в кончиках корней, так как он может поступать из побега. При исследовании передвижения в корнях радиоактивного ауксина пока получены несколько противоречивые результаты. Однако в большинстве случаев было обнаружено акропетальное передвижение ауксина (например, рис. 5.3) по направлению к кончику корня. Такое акропетальное передвижение ауксина не соответствует представлению о регуляции растяжения корня ауксином, синтезированным в апикальной зоне корня.

Гиббереллины, возможно, синтезируются в кончиках корней и передвигаются базипетально в зону растяжения. Однако и в этом случае полученные данные не вполне убедительны. Обработка гиббереллинами целых растений обычно мало влияет на растяжение корней, но изолированные корни, выращиваемые стерильно на питательной среде, иногда быстрее растут в длину в присутствии гиббереллина. Кроме того, у выращиваемых в культуре корней обычно нет корневых волосков, но они, по некоторым данным, появляются при добавлении в культуральную среду гибберелловой кислоты. На основании таких довольно разрозненных наблюдений было высказано предположение, что в конце концов нам удастся получить вполне убедительные данные об участии эндогенных гиббереллинов в регуляции роста корней растяжением.

Экзогенный этилен подавляет растяжение корней столь же эффективно и, очевидно, тем же способом, что и растяжение

Рис. 5.21. Влияние экзогенного ауксина (ИУК) на растяжение субапикальных отрезков корня *Lens culinaris*. (P. E. Pilet, M. Kober, P. A. Seigenthaler, *Rév. Gen. de Botanique*, 67, 573—601, 1960.)

Обратите внимание на то, что происходит только небольшая стимуляция растяжения и что оптимальная концентрация ИУК составляла всего 10^{-8} М ($1,75 \cdot 10^{-3}$ мг/л). При концентрациях ИУК, больших чем 10^{-7} М, рост был подавлен до значений меньших, чем рост в контроле.



стеблей (исключение составляют водные растения, такие, как рис, у которых обработка этиленом стимулирует растяжение как стеблей, так и корней). Корни также синтезируют этилен, и возможно, что подавление растяжения корней супраоптимальными концентрациями ауксина (рис. 5.21) обусловлено ускоренным синтезом этилена (рис. 5.13) в тканях корня.

Недавно было обнаружено, что кончик корня, в частности корневой чехлик, является местом синтеза ингибиторов роста, в том числе АБК, которые участвуют в регуляции удлинения корней. Почти все эти работы были связаны с исследованием роли корневого чехлика в геотропизме корней, и поэтому мы рассмотрим их позже, в гл. 7 (см. с. 293—296).

Обработка изолированных корней цитокинином, особенно в сочетании с ауксином, стимулирует клеточные деления, но не приводит к увеличению скорости растяжения корня, а поскольку стимуляция деления касается только клеток, предназначенных для проводящей ткани, мы обсудим роль цитокининов в корнях ниже.

5.6.2. Развитие проводящей ткани в корне

Утолщение более старых участков корня почти полностью определяется активностью сосудистого камбия корня. Как и в стебле, во вторично утолщающихся зонах корней двудольных имеется пучковый и межпучковый камбий. Как и в стебле, из камбия в корне возникают ткани флоэмы и ксилемы. Большая часть данных, касающихся участия фитогормонов в регуляции активности сосудистого камбия в корнях, получено на изолированных корнях, растущих в стерильной культуре (см. гл. 6). У изолированных корней таких растений, как горох (*Pisum sativum*) или редис (*Raphanus sativus*), развиваются только первичные проводящие ткани, даже если в культуральную питательную среду добавить ауксин. Однако если ауксин вводить через базальную поверхность среза изолированного корня, то по мере акропетального передвижения экзогенного ауксина к кончику корня наблюдается вторичное утолщение корня. Одновременное добавление цитокинина в значительной степени увеличивает стимулирующее влияние акропетально передвигающегося ауксина на изолированные корни.

Таким образом, опыты с изолированными корнями дают серьезные основания полагать, что нормальная регуляция камбиальной активности в корнях осуществляется ауксином, поступающим из побега. Эту мысль подтверждает тот факт, что у деревьев умеренной полосы камбий в корнях весной активизируется только после того, как волна возобновленной активности камбия побега достигает основания ствола. Волна активности переходит в корни, так что сезонная камбиальная активность

распространяется в корнях акропетально. Это еще раз свидетельствует о том, что вторичное утолщение корней регулируется ауксином, поступающим из побега.

5.6.3. Заложение корней

Для появления зачатков корней необходим ауксин. Такие данные в основном были получены при изучении образования адвентивных (придаточных) корней у черенков побегов (см. гл. 2) и при наблюдении за регенерацией у культивируемых в стерильных условиях каллусных клеток (гл. 6).

Из обычной сельскохозяйственной практики вегетативного размножения стеблевыми черенками хорошо известно, что новые корни появляются на базальном конце стебля (рис. 5.34). Естественно ожидать, что именно в этой зоне будет накапливаться эндогенный ауксин, который синтезируется в растущих листьях и почках черенка и полярно, базипетально, движется в тканях стебля.

В культуре ткани каллусных клеток при определенном соотношении ауксина и цитокинина в среде можно вызвать дифференцировку стеблевых почек или зачатков корней. Поэтому естественно предположить, что оба эти фитогормона необходимы для возникновения новой апикальной меристемы корня. Гиббереллины заметно *подавляют* образование адвентивных корней у стеблевых черенков, но причины этого неизвестны.

Заложение боковых корней было изучено в основном на изолированных корнях, растущих в стерильной питательной среде. В общем добавление в среду ауксина стимулировало образование боковых корней. Однако для заложения боковых корней у изолированных корней, очевидно, необходим не только ауксин, но и иные факторы. Отчасти на этот процесс влияют условия питания, но важны и другие, неидентифицированные вещества, поступающие из более старых тканей корня. Цитокинины также влияют на инициацию боковых корней. Так, Торри с сотрудниками заметили, что индуцированное ауксином образование боковых корней у изолированных отрезков корней гороха ускоряется при внесении определенных количеств кинетина или аденина. Создается впечатление, что образование боковых корней, по крайней мере частично, определяется соотношением концентраций ауксина и цитокинина подобно тому, как это имеет место при образовании корней в культуре каллуса (с. 240). Помимо данных об ингибировании гиббереллинами образования адвентивных корней имеются прямо противоположные сведения о стимуляции гибберелловой кислотой в определенных условиях образования боковых корней у изолированных корней томатов.

И наконец, следует упомянуть, что апикальная меристема корня подавляет образование боковых корней подобно тому, как апикальные почки побегов ингибируют развитие пазушных почек. Таким образом, удаление кончика корня приводит к ускоренному образованию боковых корней, а также увеличивает их абсолютное число. Однако у нас нет достаточных оснований считать, что подавление образования боковых корней апексом корня связано с синтезом в нем ауксина. И действительно, мы не располагаем убедительными данными, свидетельствующими о синтезе ауксина в кончике корня; кроме того, ауксин передвигается в корне акропетально, т. е. ситуация, диаметрально противоположная наблюдаемой в побеге. Помимо этого, ауксин скорее стимулирует, чем подавляет образование корней.

5.7. ГОРМОНЫ И РАЗВИТИЕ ПЛОДА

Может быть, в связи с экономическим значением плодов физиология их роста, развития и созревания изучалась очень интенсивно. В большинстве учебников ботаники приводится очень жесткая и сложная классификация плодов, основанная на их морфологии, но Дж. П. Нитч указал, что плод — это скорее физиологическое, нежели морфологическое образование. Для физиолога, и в данном случае неспециалиста, плод — это просто структура, возникающая путем развития тканей, окружающих семязачатки.

Начальный рост завязи во время развития цветка связан с клеточным делением, практически не сопровождаемым вакуолизацией клеток. У многих видов деление прекращается во время или сразу после раскрытия цветков, и последующий рост плода после опыления определяется прежде всего увеличением размеров клеток, а не их числа. Например, у томатов (*Lycopersicon esculentum*) и черной смородины (*Ribes nigrum*) клеточные деления прекращаются при зацветании, и дальнейший рост происходит только путем растяжения клеток. У таких видов конечная величина плодов зависит от числа клеток завязи во время раскрытия цветков. Вместе с тем у других видов (например, у яблони) клеточное деление может продолжаться некоторое время после опыления.

Клетки плодов, увеличиваясь путем вакуолизации, могут достигать огромных размеров. Так, зрелые плоды арбуза (*Citrullus vulgaris*) состоят главным образом из столь крупных клеток, что они видны невооруженным глазом.

5.7.1. Завязывание плодов

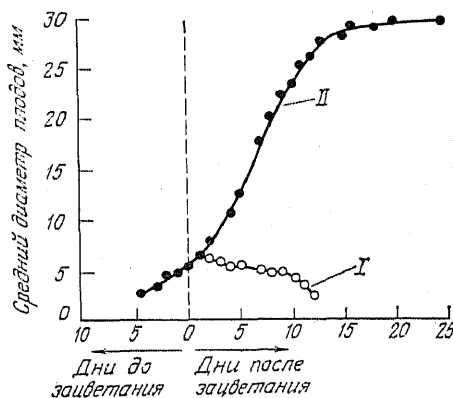
Раннее развитие семязачатка и завязи происходит одновременно с развитием других частей цветка (с. 64). У некоторых видов завязь перестает расти во время или до раскрытия

цветка (рис. 5.22), у других — рост завязи продолжается некоторое время после зацветания и до опыления. В обоих случаях дальнейший рост завязи происходит только при успешном опылении. Если по тем или иным причинам опыление не произойдет, то рост и развитие плода прекращаются. Неудача в опылении обычно приводит к сбрасыванию с растения неоплодотворенных цветков, что часто опосредовано образованием отдельного слоя (см. с. 439) в цветоножке. После успешного опыления, напротив, начинается быстрый рост завязи и развитие плода (рис. 5.22). В то же самое время лепестки и тычинки завядают и часто опадают. Начало роста завязи и завядание тычинок и лепестков — это начало развития плода, и эту фазу часто называют *завязыванием плода*. Очевидно, сам процесс опыления независимо от того, последует ли за ним оплодотворение, является достаточным стимулом для активации роста завязи и других частей будущего плода. Об этом говорит тот факт, что у многих мясистых плодов завязь начинает увеличиваться в размере прежде, чем проходит время, достаточное для оплодотворения. Более того, даже «чужая» пыльца, взятая от неродственных растений и поэтому непригодная для оплодотворения, может вызвать заметную стимуляцию роста завязи.

Стимулирующее влияние пыльцы на рост завязи, очевидно, связано с содержащимся в ней ауксином. В 1909 г. Фиттинг наблюдал, что водный экстракт пыльцы орхидей вызывал у неоплодотворенных орхидей набухание завязей и завядание лепестков, а позже было обнаружено, что пыльца является богатым источником ауксина. И наконец, было показано, что обработка неоплодотворенных цветков ряда видов чистыми препаратами ИУК приводит к завязыванию плодов даже без опыления. К таким видам, плоды которых завязываются под влиянием ауксинов, относятся томаты, перец, табак, остролист, инжир и ежевика. Плоды, завязавшиеся у этих видов путем

Рис. 5.22. Кривые роста завязей *Cucumis anguria*. (J. P. Nitsch, Quarterly Rev. Biol., 27, 33—57, 1952.)

Рост неоплодотворенных завязей (I) прекращается вскоре после зацветания, тогда как рост опыленных завязей (II) носит типичный сигмоидный характер. Уменьшение диаметра неоплодотворенных завязей происходит в результате их «сморщивания».



гормональной обработки неоплодотворенных цветков, лишены семян. Образование таких бессемянных плодов называют *парте-нокарпией*. Недавно было показано, что этилен имитирует влияние пыльцы на набухание завязи и завядание лепестков у разных видов. Таким образом, возможно, что некоторые из эффектов ауксинов на завязи опосредованы их влиянием на образование этилена.

5.7.2. Рост плодов

Хотя опыление может стимулировать начальное набухание плода, у большинства видов дальнейшее развитие плода, очевидно, зависит от присутствия развивающихся семян и, следовательно, может происходить только при успешном оплодотворении. Так, для многих плодов, таких, как виноград, черная смородина, томаты, яблоки и груши, существует строгая корреляция между конечным размером плода и числом полностью развитых семян в нем. Нитч в изящных хирургических опытах на землянике показал, что рост цветоложа зависит от развития семян (рис. 5.23).

О взаимосвязи роста завязи и роста зародыша и эндосперма можно судить по изменению скоростей роста этих различных частей плода на разных стадиях развития. В некоторых случаях кривая роста плода сигмоидная (например, у яблони), а иногда она имеет две волны (рис. 5.24). У персика изменение скорости роста перикарпа, очевидно, коррелирует с изменениями в скорости роста развивающихся семян. Стимулирующее влияние развивающихся семян на рост тканей перикарпа, по видимому, связано, по крайней мере частично, с влиянием образующегося в семенах ауксина. Развивающиеся семена являются богатым источником ауксина, и было показано, что в тканях плода существует градиент концентрации ауксина: наивысшая концентрация ауксина наблюдается в семенах, более низкая — в плаценте и самая низкая — в стенке плода. Такой градиент соответствует представлению о синтезе ауксина в развивающихся семенах и его движении из семян к другим частям плода.

Хорошим примером взаимосвязи между эндогенными ауксинами и ростом плодов служит рост ягод черной смородины, описываемый двойной сигмоидной кривой (рис. 5.24). В этих ягодах были обнаружены два ауксина, один из которых кислый (возможно, ИУК), а другой — нейтральный (возможно, ИАН). Эти два ауксина образуются главным образом в периоды развития эндосперма и зародыша, которые в свою очередь совпадают с периодами максимальных скоростей роста плода. Поэтому представляется вероятным, что в первый период активного роста плодов черной смородины регуляторную роль играют ауксины, образующиеся в развивающемся эндосперме, а вторая

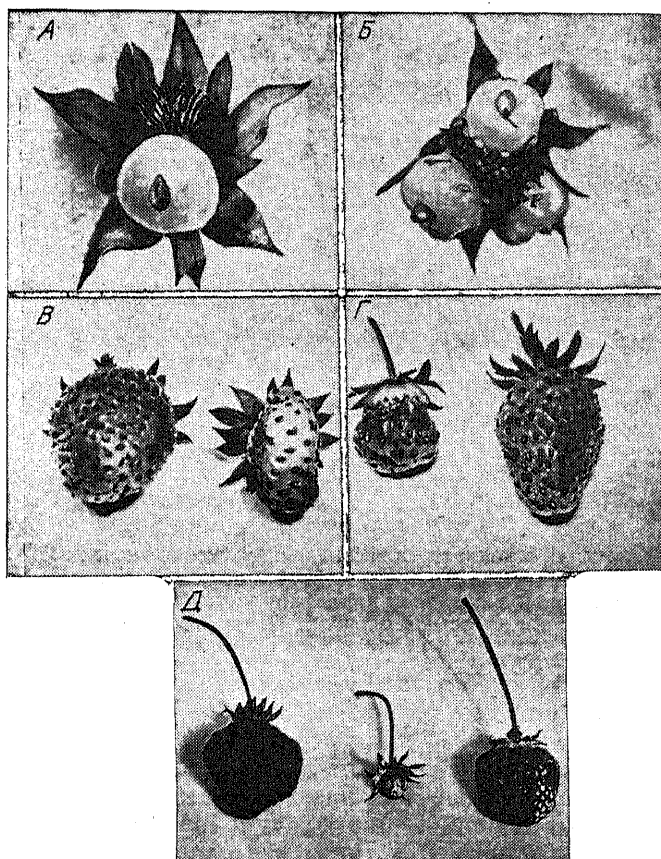


Рис. 5.23. Корреляция между развитием плодиков и ростом цветоложа у земляники. (Фотография любезно предоставлена д-ром J. P. Nitsch. Перепечатано из Laboratoire du Phytotron, Gif-sur-Yvette, France; Amer. J. Bot., 37, 211—215, 1950.)

А. Имсеется только один оплодотворенный плодик. Б. Имеются три оплодотворенных плодика. В. Контрольный плод (слева); плод с тремя вертикальными рядами семян (справа). Г. Плод с двумя рядами семян (слева); контрольный плод (справа). Д. Три одновозрастные ягоды земляники: контроль (слева); удалены все плодики, а цветоложе смазано ланолиновой пастой, содержащей 100 мкг/л ауксина — β -нафтилуксусной кислоты (справа).

вспышка роста определяется ауксином, образующимся в растущем зародыше. О подобном совпадении образования ауксина и роста плодов сообщили для разных видов некоторые другие исследователи, но имеются и противоположные сообщения об отсутствии у отдельных видов прямой корреляции между содержанием ауксина и скоростью роста плодов.

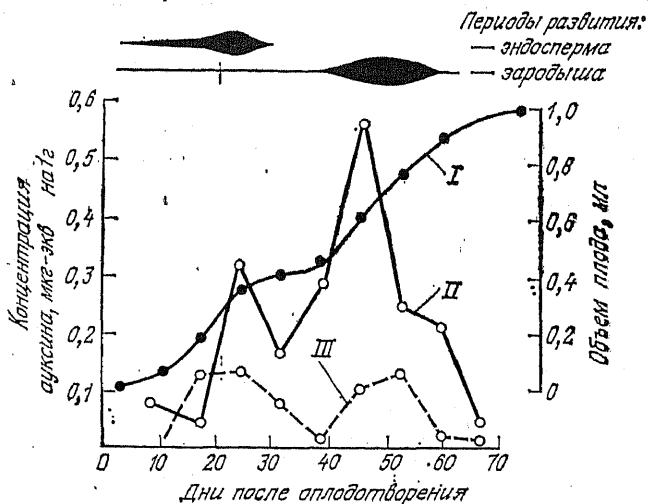


Рис. 5.24. Изменения в концентрации 3-индолилуксусной кислоты (II) и неидентифицированного нейтрального ауксина (III) в ягодах черной смородины в сопоставлении с двойной сигмовидной кривой их роста (I) и основными стадиями развития эндосперма и зародыша. (S. T. C. Wright, J. Hort. Sci., 31, 196, 1956.)

Важно иметь в виду, что, несмотря на участие ауксина в регуляции роста цветков и плодов, очень вероятно, что ауксины не являются единственными фитогормонами, регулирующими эти процессы. У многих видов растений оказалось невозможным вызвать партенокарпическое развитие плодов под действием ауксинов, но опрыскивание цветков гиббереллином приводило к партенокарпии (например, у таких представителей рода *Prunus*, как вишня, персик или миндаль). Однако это влияние экзогенного гиббереллина на развитие плодов само по себе еще не говорит с полной определенностью об участии эндогенных гиббереллинов в регуляции нормального роста плодов и семян. Впоследствии было изучено содержание гиббереллина в различных плодах и семенах на разных стадиях их развития и в общем было обнаружено, что молодые, развивающиеся семена содержат сравнительно большие количества гиббереллинов. По мере созревания семян и замедления их роста в них снижается содержание гиббереллина. По всей вероятности, гиббереллины движутся от молодых, развивающихся семян так же, как это предполагают для ауксинов, и что оба типа гормонов участвуют в регуляции роста плодов.

Третий тип гормонов, вероятно, влияющих на процесс роста плода, — это цитокинины. Как мы уже говорили (гл. 3), цитокинины особенно активны в регуляции клеточного деления, и поэтому естественно ожидать, что этот тип гормонов регулирует

ет рост молодых, развивающихся плодов, в которых, как известно, происходит активное клеточное деление. Участие цитокининов в регуляции роста плодов подтверждается опытами, в которых показано присутствие цитокининов в молодых плодах яблони, банана и томатов на стадии наиболее активного клеточного деления в них. Таким образом, мы можем считать, что несколько типов фитогормонов регулируют рост и дифференцировку плодов, что, по-видимому, справедливо в отношении всех фаз развития растений.

5.7.3. Партенокарпия

Мы уже видели, что у некоторых видов под влиянием обработки неопыленных цветков ауксинами или гиббереллинами образуются партенокарпические плоды. Помимо искусственно вызванной партенокарпии у некоторых видов наблюдается естественная партенокарпия. Так, в практике сельского хозяйства известны сорта бананов, ананасов, огурцов, томатов и инжира, у которых обычно образуются бессемянные плоды. У некоторых видов такие плоды появляются без опыления, у других — опыление необходимо, но оплодотворения не происходит и, наконец, у третьих происходит оплодотворение, но зародыш погибает до созревания плода. Неизвестно, каким образом регулируется рост таких бессемянных плодов, но в некоторых случаях материнские ткани, например плацента, по-видимому, могут в отсутствие нормального зародыша синтезировать ауксин. Так, было показано, что завязи еще нераскрывшихся цветков партенокарпических сортов апельсинов и винограда содержат больше ауксина, чем завязи обычных сортов. Более того, было обнаружено, что молодые партенокарпические плоды огурцов содержат структуры, напоминающие семена, но не имеющие зародышей и эндосперма, и, возможно, что именно эти структуры являются центрами синтеза ауксина.

Образование полностью развитых плодов в ответ на однократную обработку цветков ауксином (с. 199) ставит ряд проблем, так как трудно предположить, чтобы введенного таким способом ауксина было достаточно для развития плода в течение нескольких недель. Однако было показано, что у некоторых видов, таких, как табак, опыление стимулирует образование ауксина в тканях самой завязи и, возможно, что обработка экзогенным ауксином также может иницировать синтез ауксина в каких-то тканях плода, а после этого такой эндогенно образующийся ауксин удовлетворяет все потребности для дальнейшего развития плода. Обнаружено, что обработка ауксином приводит к росту неоплодотворенных семязачатков, в результате чего развиваются нормальные семенные покровы, но не содержащие зародыши. Интересно отметить, что у некоторых видов, таких,

как оливы, хмель и кукуруза, обработка ауксином инициирует завязывание плодов, но их дальнейшее развитие не происходит без опыления. По-видимому, у этих видов экзогенный ауксин не стимулирует образование эндогенного ауксина, необходимого для дальнейшего развития плода.

5.8. РОСТОВЫЕ КОРРЕЛЯЦИИ

Процессы роста различных частей растения, протекающие одновременно, не независимы друг от друга, а тесно связаны между собой. Так, когда благодаря активности апикальной меристемы длина стебля увеличивается, увеличивается также и прочность стебля, поскольку в результате камбиальной активности более старые части стебля становятся толще и жестче, что позволяет всему побегу стоять прямо. Далее по мере увеличения размеров побега увеличивается потребность в воде и минеральных питательных веществах, и эта потребность обеспечивается благодаря хорошей сбалансированности между ростом побега и ростом корня. Когда увеличивается масса побега, увеличивается корневая система, так что она становится способной обеспечить дополнительные потребности побега в минеральных питательных веществах. В какой-то мере эти *ростовые корреляции*, как их называют, можно объяснить исходя из потребностей в питательных веществах, или трофическими факторами, и конкуренцией растущих частей растения за эти вещества. Так, рост побега и рост корня связаны друг с другом, и это, быть может, отчасти определяется их взаимозависимостью в отношении снабжения друг друга питательными веществами. Побег снабжает корень органическими веществами, которые тот не может сам синтезировать, и в свою очередь получает от корня воду и минеральные соли, к которым побег не имеет прямого доступа. Точно так же вегетативный рост сильно подавляется во время плодоношения, по-видимому, главным образом из-за того, что питательные вещества поступают в развивающиеся семена и плоды (см. гл. 12).

Однако этим, конечно, не исчерпываются взаимоотношения растущих частей. Конкуренция за питательные вещества не объясняет, почему в каждый данный момент активный рост обычно происходит только в немногих из многочисленных мест, где он потенциально возможен. Примером может служить активный рост апикальной меристемы побега при подавленном росте лежащих ниже пазушных почек. Это явление было названо *апикальным доминированием* или *коррелятивным ингибированием почек*. Похожая ситуация существует и в корне: апекс главного корня подавляет закладку боковых корней в перицикле. Удаление апекса корня стимулирует образование боковых корней у остатка корня точно так же, как удаление апикальной почки по-

бега активирует пазушные почки. Однако это сходство, возможно, только внешнее и на самом деле определяется разными механизмами.

Известно, что важную роль в корреляции роста различных частей растения играют фитогормоны. Вполне вероятно, что все ростовые корреляции так или иначе зависят от характера распределения гормонов в растении. Мы уже приводили несколько случаев, когда корреляции в росте опосредованы фитогормонами: например, при стимуляции активности камбия ауксином и гиббереллинами, синтезируемыми в почках побегов древесных растений, или стимуляции роста плода гормонами, образующимися в развивающихся семенах. Теперь мы остановимся на роли гормонов в апикальном доминировании.

5.8.1. Апикальное доминирование

Апикальная почка побега обычно растет гораздо активнее, чем пазушные почки, хотя совершенно очевидно, что она расположена наименее благоприятно в отношении снабжения органическими и неорганическими питательными веществами, поступающими из взрослых листьев и из корневой системы. Степень доминирования апикальной почки над расположенными ниже пазушными почками сильно варьирует у различных видов растений. У некоторых видов, например у высоких разновидностей подсолнечника (*Helianthus annuus*), доминирование полное, и оно распространяется почти на всю длину стебля. У других, таких, как томаты, доминирование апикальной почки слабее и боковые почки, расположенные лишь немного ниже основной верхушки побега, растут и образуют куст.

У многих видов доминирование верхушки побега ослабевает по мере старения растения. Это хорошо заметно у таких растений, как явор (*Acer pseudoplatanus*) или ясень (*Fraxinus excelsior*), у которых в первые годы интенсивно растет основной побег, а в последующие годы наблюдается усиленное ветвление. Даже у однолетних травянистых растений апикальное доминирование часто ослабевает к концу вегетационного периода, а у тех видов, у которых апикальная меристема в конце концов дифференцируется в верхушечный цветок, это превращение часто совпадает с освобождением боковых почек от коррелятивно-го торможения.

Если декапитировать побег, т. е. удалить апикальную почку, то начинают расти одна или более расположенных ниже боковых почек. Обычно один из пошедших в рост боковых побегов становится доминирующим, подавляя рост остальных. Причем чаще всего в таких случаях доминирующий побег вырастает из самой верхней из боковых почек. Итак, активно растущая почка доминирующего побега посылает какой-то сигнал. Влияние это-

го сигнала наиболее отчетливо проявляется в коррелятивном ингибировании роста боковых почек и побегов, но оно сказывается также и на других морфогенетических аспектах, например на ориентации боковых побегов, ветвей, корневищ и клубней, а также на характере их дифференцировки.

Результаты ряда опытов, проведенных в первые два десятилетия этого века, показали, что молодые, растущие листья верхушечной почки синтезируют ингибитор, обуславливающий ростовые корреляции, который диффузно передвигается только по живым клеткам растения. Открытие в начале 30-х годов ауксина (3-индолилуксусной кислоты, ИУК) и обнаружение того факта, что молодые, развивающиеся листья являются основным источником ауксина в побеге, навело на мысль, что передвижение ИУК от верхушечной почки и служит тем сигналом, который определяет апикальное доминирование. Вскоре, в 1934 г. Тиманн и Скуг обнаружили, что экзогенная ИУК может заменить апикальную почку в ингибировании боковых почек у фасоли. В последующие годы это наблюдение было многократно подтверждено для многих видов растений (рис. 5.25). Позже стало известно о немногих исключениях, в частности для *Coleus* было показано, что экзогенный ауксин практически не влияет на рост боковых почек. Тем не менее недавно было продемонстрировано, что апикально введенный экзогенный ауксин может ингибировать боковые побеги даже у *Coleus*, но только в условиях недостаточного снабжения питательными веществами. Поэтому кажется бесспорным, что в основе механизма коррелятивного ингибирования лежит синтез ИУК в апикальной части побега, возможно в молодых растущих листьях, и его передвижение вниз по стеблю.

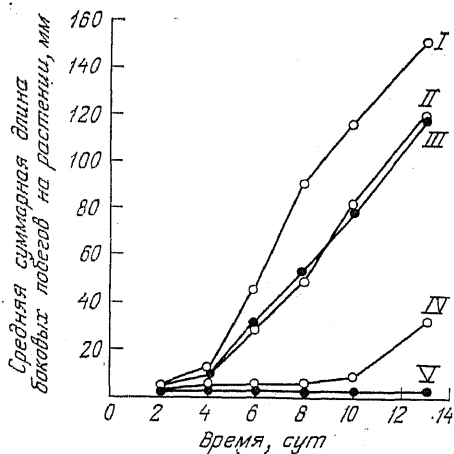


Рис. 5.25. Влияние гормонов на рост боковых почек после декапитации растений гороха (*Pisum sativum*). (Данные И. Д. Дж. Филлипса.)

Гормоны вносили в лапологии (в концентрации 1000 мкг/л) на пенки декапитированных растений. По оси ординат отложены значения суммарного роста трех оставшихся на растении боковых почек в расчете на 1 растение. I — декапитация + ГА₃; II — декапитация + кинетин; III — декапитированный контроль; IV — декапитация + ИУК; V — контроль (интактный апекс).

Однако каким образом ауксин ингибирует рост боковых почек, не вполне понятно до настоящего времени. Кажется парадоксальным, что ауксин, о котором мы до сих пор говорили как о стимуляторе роста, подавляет рост боковых почек. Чтобы обойти это противоречие, Тиманн в 1937 г. высказал предположение, что концентрация ауксина, оптимальная для роста почек, ниже, чем для стеблей, и что рост почек подавляется «супраоптимальной» концентрацией ауксина (рис. 5.8, А), синтезированного в молодых, растущих листьях и передвигающегося оттуда базипетально вдоль стебля. Это так называемая *теория прямого ингибирования* ауксином боковых почек. Конечно, она основывается на допущении, что ауксин из стебля попадает в боковые почки.

В наши дни значение теории прямого ингибирования Тиманна подвергается сомнению. Одно из основных возражений против этой теории заключается в том, что измеренное содержание ауксина в ингибированных боковых почках *Lupinus*, *Pisum sativum* и *Syringa vulgaris* оказалось далеко не супраоптимальным, а скорее субоптимальным. Было также обнаружено, что введение в пенек декапитированных растений *Lupinus* и *Phaseolus multiflorus* небольших количеств ауксина на самом деле ускоряло рост боковых побегов, а ингибирование наблюдалось только при более высоких концентрациях ауксина. Таким образом, сейчас считается, что ингибирующее действие ауксина на боковые почки уж не столь непосредственно, как это исходно предположил Тиманн.

Одна из ранних гипотез для объяснения апикального доминирования сводится к допущению, что апикальная меристема, возникающая первой в проростке, постоянно лучше обеспечивается метаболитами, передвигающимися по градиенту их концентраций. Эта так называемая *трофическая теория* апикального доминирования.

Если трофическая теория справедлива, то можно ожидать, что доминирование апикальной почки над боковыми наиболее ярко проявится при недостатке питательных веществ, например при выращивании растений на почве, бедной необходимыми минеральными элементами. Это действительно отчетливо видно у некоторых растений, в частности у льна (*Linum usitatissimum*), у которого верхушечная почка полностью подавляет ветвление при недостатке минеральных питательных веществ, тогда как в условиях хорошего минерального (особенно азотного) питания боковые побеги растут свободно. Можно предположить, что при хорошем обеспечении растения питательными веществами достаточное их количество «остается» после удовлетворения потребностей роста апикальной почки и они движутся в боковые почки. Введение ИУК через пеньки декапитированных растений льна, растущих на высоких и низких дозах

питательных веществ, полностью имитировало влияние апикальной почки.

Хотя несомненно, что верхушечная почка получает действительно больше питательных веществ, чем боковые почки, простая схема градиента питательных веществ, предлагаемая трофической теорией, не может хорошо объяснить, почему ауксин заменяет апикальную почку при коррелятивном ингибировании боковых почек. Далее, многочисленные опыты с такими изотопами, как ^{32}P -фосфат и ^{14}C -сахароза, показали, что питательные вещества передвигаются и накапливаются в зонах высокой концентрации экзогенного ауксина (рис. 5.26). Этот направляемый ауксином транспорт метаболитов показывает, что синтез ауксина в апикальной почке и его базипетальное передвижение вызывают ток питательных веществ в область наивысшей концентрации ауксина, т. е. в саму апикальную почку. Пока не ясно, как это происходит. Одно из предположений заключается в том, что базипетально передвигающийся в стебле ауксин подавляет развитие ответвлений проводящей ткани (ксилемы и флоэмы) от главной стелы к боковым почкам, и это ухудшает снабжение боковых почек питательными веществами, движущимися по проводящей системе. Следовательно, согласно этой гипотезе, при понижении содержания ауксина в стебле после декапитации каким-то образом происходит быстрое развитие сосудов, соединяющих почку со стеблем. Немало исследователей в последние годы проверяло эту гипотезу, и, хотя полученные результаты довольно противоречивы, основная масса накопленных данных свидетельствует против возможности подав-

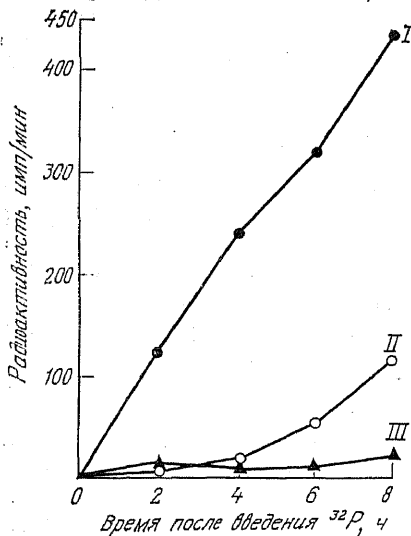


Рис. 5.26. Транспорт, направляемый ауксином (C. R. Davies, P. F. Wareing, *Planta*, 65, 139—156, 1965.)

Влияние ИУК на скорость накопления ^{32}P в верхушке стебля декапитированного растения гороха. Радиоактивный ^{32}P вводили в основание стебля у поверхности почвы. У декапитированных растений, не получавших ауксина, в верхушке стебля накапливалось очень мало ^{32}P (III). Нанесение ИУК на верхушку стебля сразу после удаления апикальной почки (I) сильно ускоряло накопление ^{32}P . Кривая II показывает влияние аппликации ауксина через 6 ч после декапитации.

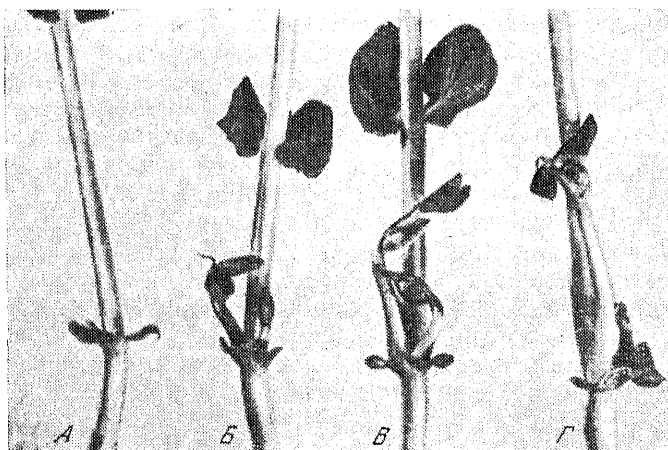


Рис. 5.27. Снятие коррелятивного ингибирования с боковых почек интактного растения при помощи обработки цитокинином и последующей обработки апекса растущей почки ауксином. (Tsui Sachs, K. V. Thimann Amer. J. Bot., 54, 136—144, 1967. Фотография предоставлена проф. К. V. Thimann.)

А. Необработанная почка. Б. Почка обработанная только кинетином. В. Почка, обработанная сначала кинетином, а через 3 сут гибберелловой кислотой. Г. Почка, обработанная кинетином, а через 3 сут 3-индолилуксусной кислотой (ИУК). Только те почки, которые были обработаны сначала кинетином, а затем ИУК, продолжали расти более или менее нормально. Обработка гибберелловой кислотой после кинетина не влияла на длительный рост почек. Все гормоны наносили непосредственно на почки. Для улучшения их проникновения в ткани гормоны растворяли в смеси 50% этанола и 8% карбовакса. Были использованы следующие концентрации: 330 мкг/л кинетина, 100 мкг/л GA_3 и 1000 мкг/л ИУК. Растения сфотографировали через 7 сут после первой обработки гормоном.

ления роста почек вследствие их плохого снабжения по недостаточно развитой проводящей системе. Так, было обнаружено, что достаточно часто рост почек начинался в пределах нескольких часов после декапитации побега, а развитые сосуды появлялись только тогда, когда почки уже активно росли. У других видов было найдено, что совершенно нормальные на вид ксилема и флоэма соединяют стебель с полностью ингибированными почками.

Другого рода данные, заставляющие сомневаться в правильности трофической гипотезы, заключаются в том, что содержание основных питательных веществ в коррелятивно ингибированных почках, по-видимому, совершенно нормально, а введение в ингибированные почки различными способами основных неорганических и органических питательных веществ не вызывало их рост при условии сохранения активно растущей апикальной почки.

Исследования последнего десятилетия показали, что важную роль в апикальном доминировании играют цитокинины. У многих растений непосредственная обработка коррелятивно ингибированных почек препаратом цитокинина может снять ингибирование этой почки на интактном растении (рис. 5.27). Поэтому можно предположить, что ингибированная почка не развивается из-за недостатка в ней цитокинина. Позже (гл. 12) мы обсудим данные о том, что цитокинины синтезируются главным образом в корневой системе, но необходимы и для нормального функционирования тканей побега. Возможно, что ауксин из апикальной почки регулирует передвижение синтезируемых в корнях цитокининов таким образом, что большая их часть поступает в апикальную, а не в боковые почки. Как мы уже говорили, коррелятивно ингибированные почки содержат мало эндогенного ауксина, и поэтому они не получают достаточного количества цитокинина из корней или сами не синтезируют его в достаточном количестве. В пользу такого предположения свидетельствует тот факт, что при снятии апикального доминирования непосредственной обработкой почек цитокинином их рост обычно непродолжителен, а затем снова вступает в силу апикальное доминирование. Длительный рост происходит только в том случае, если вслед за цитокинином почки обработать ауксином (или иногда, как было показано, гиббереллином) (рис. 5.27). Одно из возможных объяснений этого состоит в том, что экзогенный цитокинин инактивируется в растущей

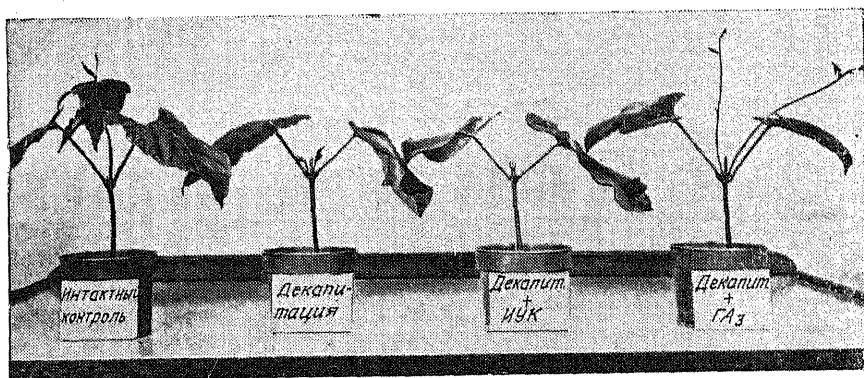


Рис. 5.28. Апикальное доминирование у растений фасоли (*Phaseolus*). Шестнадцатидневные растения декапитировали за пять дней до того, как была сделана фотография. Слева направо: у целого растения почки коррелятивно ингибированы; у растения, декапитированного и не обработанного никаким гормоном, почки начинают расти; у растений, обработанных 0,1% ИУК, нанесенной в ланолине на поверхность среза, рост почек подавлен; быстрый рост почек декапитированного растения, на поверхность среза которого нанесена гибберелловая кислота.

почке прежде, чем ее молодые листья приобретают способность синтезировать достаточно ауксина, чтобы вызвать синтез цитокинина или его приток в почку. Дополнительные данные о том, что недостаток цитокинина подавляет рост коррелятивно ингибированных почек, были получены в цитологических работах. Судя по результатам этих работ, в апикальных меристемах таких почек подавлена активность клеточного деления. Имеется много данных, что цитокинины играют особенно важную роль в регуляции активности клеточного деления у растений (гл. 3) и обработка ингибированных почек цитокинином действительно приводит к немедленной активации в них клеточного деления.

По имеющимся данным, гиббереллины в отличие от ауксинов и цитокининов не участвуют в непосредственной регуляции апикального доминирования. Так, гиббереллины не заменяют апикальную почку в коррелятивном ингибировании боковых почек (рис. 5.25 и 5.28) и не освобождают почки от коррелятивного ингибирования (как это делают цитокинины). Обработка интактных растений экзогенным гиббереллином часто приводит к усилению апикального доминирования, но, может быть, это связано с изменением у обработанных гиббереллином растений содержания и распределения эндогенного ауксина.

5.8.2. Взаимодействие гормонов при развитии столона

Прекрасным примером важности взаимодействия гормонов при регуляции роста побега служит развитие столонов у картофеля. Столоны — это боковые побеги, которые обычно растут из базальных узлов стебля под поверхностью почвы. Они отличаются от прямостоячих облиственных боковых побегов надземной части тем, что 1) несут только рудиментарные листья; 2) характеризуются вытянутыми междоузлиями; 3) с трудом зеленеют (даже на свету) и 4) растут горизонтально. Апикальное доминирование очевидно, играет важную роль при развитии столонов, так как если декапитировать надземный побег и удалить с него все боковые побеги, то столоны начинают расти вверх и образуют нормальные прямостоячие облиственные побеги.

Обычно столоны не образуются на верхней, облиственной части надземного побега, но их образование можно вызвать искусственно путем декапитации побега и введения экзогенных гормонов. Если через пенек декапитированного побега ввести только ИУК, то это частично подавит развитие самого верхнего пазушного побега, а если ввести одну GA_3 , то этот побег вытянется. Напротив, при одновременной обработке декапитированного побега ИУК и GA_3 происходят значительные изменения в развитии этого самого верхнего пазушного побега: он

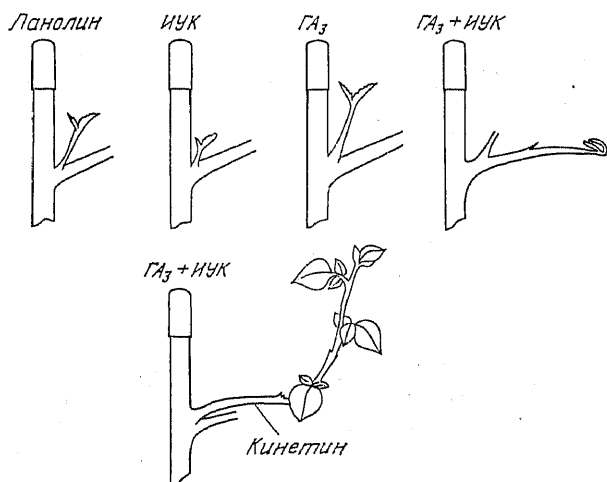


Рис. 5.29. Взаимодействие между гормонами при регуляции развития столонов у дикорастущего картофеля *Solanum andigena*. Облиственные надземные побеги декапитировали и на поверхность среза наносили ланолиновую пасту, содержащую различные гормоны. Верхний пазушный побег реагировал на введение гормонов следующим образом: у контрольного побега (на который нанесен чистый ланолин) вырастал облиственный пазушный побег; ИУК подавляла рост пазушного побега; при введении GA_3 междоузлие пазушного побега несколько вытягивалось; под влиянием ИУК + GA_3 пазушный побег рос горизонтально и имел вид столона; если сначала обработать картофель ИУК и GA_3 , а затем на *верхушку* столона нанести кинетин, то пазушный побег начнет расти вверх и на нем появятся нормальные листья. (A. Booth, J. Linnean Soc. 51, 166, 1959; D. Kumar, P. F. Wareing, New Phytol. 71, 639, 1972.)

занимает горизонтальное положение и становится похожим на стolon (рис. 5.29). Кинетин, введенный через декапитированный стебель, не оказывает заметного влияния, но непосредственная обработка кинетином или бензиладенином *верхушки* естественно или искусственно образованного столона быстро приводит к тому, что он начинает расти вверх и превращается в облиственный побег (рис. 5.29). Таким образом, развитие бокового побега у картофеля можно очень точно регулировать, варьируя уровни ауксина, гиббереллина и цитокинина. По-видимому, и в природе регуляция развития столона зависит от взаимодействия эндогенных гормонов.

Эти разнообразные примеры, приведенные в данной и предыдущей главах, показывают, что корреляция и интеграция роста и развития растения, по крайней мере частично, определяются наличием определенных количеств фитогормонов в нужных участках и в нужное время. Остается, однако, неясным, что регулирует количество и распределение фитогормонов внутри растения.

5.9. ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНОГО БАЛАНСА РАСТЕНИЙ И ФОТОСИНТЕЗА

Было обнаружено, что воздействие различного рода стрессовых ситуаций, таких, как засуха, затопление корней или высокая засоленность почвы, приводит к быстрым и значительным изменениям в содержании эндогенных гормонов в растениях. Примерно за последние 10—15 лет удалось выяснить, что фитогормоны вовлечены в регуляцию водного потенциала клеток и проницаемости клеточных мембран и, следовательно, регулируют содержание воды в тканях и фотосинтез. Такое открытие было довольно неожиданным, но если мы узнаем, каким образом фитогормоны регулируют содержание воды в растениях, то это найдет очень широкое применение в сельском хозяйстве и садоводстве, поскольку недостаток воды для культурных растений, по-видимому, служит основным ограничением в мировом производстве пищи.

Про растения говорят, что они подвергаются водному стрессу, иными словами, испытывают недостаток в воде, когда их клетки и ткани начинают утрачивать тургор. Недостаток воды в растениях возникает в том случае, если скорость транспирации превышает скорость поступления воды из корней, а это часто бывает и при отсутствии явных признаков завядания побега. Однако различные части побега теряют воду в атмосферу с различной скоростью и поэтому в разной степени страдают от недостатка воды. Среди факторов, определяющих различную скорость потери воды разными органами, безусловно, можно назвать различия в отношении поверхности к объему, толщину кутикулы и наличие или отсутствие устьиц. Кроме того, молодые, растущие листья и плоды с большим успехом конкурируют за доступную воду, чем более старые листья и плоды. Поэтому обычно у зрелых листьев любого растения раньше всего обнаруживаются симптомы недостатка воды и, кроме того, вследствие этого наступает преждевременное старение листьев. Теперь известно, что снижение клеточного тургора вызывает изменения в общем гормональном балансе растения, а это приводит к закрыванию устьиц, снижению сопротивления корней передвижению воды и к старению листьев.

5.9.1. Изменения в содержании эндогенных гормонов при водном стрессе

Работы по изучению содержания эндогенных гормонов в связи с водным стрессом касаются главным образом АБК, цитокининов и этилена, так как было обнаружено, что именно эти вещества участвуют в регуляции водного баланса у растений.

Другие известные фитогормоны, ауксины и гиббереллины, не играют заметной роли в явлениях, связанных с водным стрессом.

ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ

А. Абсцизовая кислота

Когда растения попадают в условия засухи и содержание воды в них падает, наблюдается заметное и быстрое увеличение концентрации АБК в его побегах (рис. 5.30). Это накопление АБК в подвергнутому водному стрессу тканях скорее всего происходит в результате ее усиленного синтеза *de novo* из мевалоновой кислоты, а не в результате высвобождения АБК из ее эфира с глюкозой. По-видимому, не существует какого-то общего критического порогового уровня потери воды, после которого начинается синтез АБК, но обычно она начинает накапливаться, когда водный потенциал листьев ($\Psi_{\text{листа}}$) снижается вдвое по сравнению с нормальным для дневного периода $\Psi_{\text{листа}}$. Как только водный стресс снимается (например, в результате полива), содержание АБК начинает уменьшаться главным образом за счет ее метаболического превращения в фазеевую и дигидрофазеевую кислоты, хотя часть АБК может образовать эфир с глюкозой (с. 114). Чем сильнее возрастает содержание АБК за время сухого периода, тем больше времени занимает возвращение ее содержания к исходному уровню.

Между скоростью транспирации и фотосинтетической активностью в листьях, с одной стороны, и содержанием в них АБК — с другой, существует отрицательная корреляция (рис. 5.30). Это позволяет предположить, что один из эффектов АБК — закрывание устьиц. Прямые измерения проводимости листьев (т. е. способность поверхности листа пропускать газы и водяные пары) и микроскопические исследования подтвердили, что высокое содержание АБК приводит к закрыванию устьиц (рис. 5.31). Механизм движения устьиц раскрыт еще не до конца, поэтому в настоящее время невозможно дать полностью удовлетворительное объяснение влияния АБК на устьица. Однако некоторые моменты, проливающие свет на эту проблему, были установлены. В частности, было экспериментально показано влияние АБК на проницаемость мембран замыкающих клеток для ионов калия (K^+). Коротко говоря, открывание устьиц происходит в результате притока K^+ из окружающих клеток. Избыток K^+ увеличивает осмотическое давление в замыкающих клетках, что в свою очередь вызывает приток воды и открывание устьиц. Кроме того, возможно, что одновременно с поступлением калия в замыкающих клетках происходит распад молекул крахмала, приводящий к накоплению сахаров и органи-

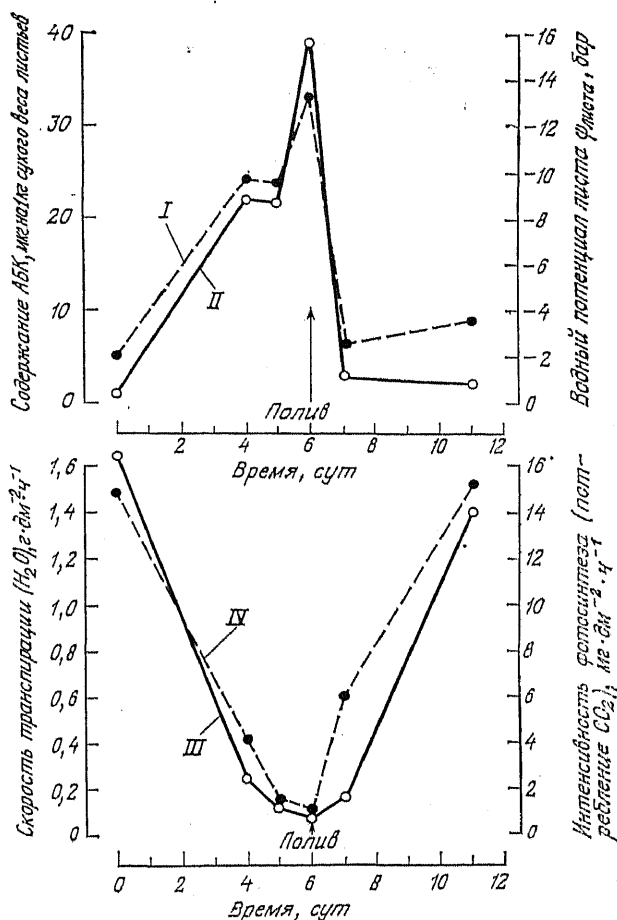


Рис. 5.30. Изменения содержания АБК (II) в листьях *Vitis vinifera* и соответствующие им изменения в водном потенциале листьев (I), скорости транспирации (III) и интенсивности фотосинтеза (IV) (B. R. Loveys, P. E. Kriedemann, *Physiologia Plantarum*, 28, 476—479, 1973.)

Растения находились в засушливых условиях в первые 6 сут опыта, а затем их снова начинали поливать. Медленное восстановление фотосинтетической активности, по-видимому, обусловлено действием фазевой кислоты, образующейся из АБК при поливе растений. Известно, что фазевая кислота подавляет фотосинтез.

ческих кислот. Как сахара, так и органические кислоты также повышают осмотическое давление в замыкающих клетках, а ионы H^+ , образующиеся при диссоциации органических кислот, возможно, являются теми ионами, которые обмениваются с поступающим K^+ , благодаря чему сохраняется электрическая

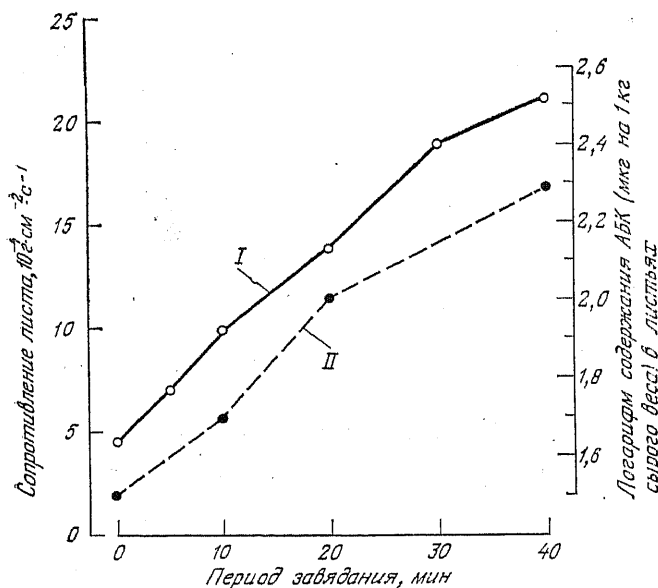


Рис. 5.31. Корреляция между содержанием эндогенной АБК (II) и сопротивлением (I), оказываемым тканями листа движению газов и паров у *Phaseolus vulgaris*. Растения подсушивали в течение указанных периодов времени током сухого воздуха. (R. W. P. Hiron, S. T. C. Wright, J. Experimental Botany, 24, 769—781, 1973.)

нейтральность клетки. Было показано, что АБК препятствует поступлению K^+ в замыкающие клетки и распаду крахмала в хлоропластах этих клеток. В связи с этим интересно и, по-видимому, важно для регуляции движения устьиц, что при недостатке воды в хлоропластах происходит синтез АБК и гормон легко передвигается оттуда в другие части клетки и растения. Фактически подавление или прекращение роста апикальных частей растения при засухе можно объяснить передвижением АБК в эти области из мест ее синтеза в зрелых листьях.

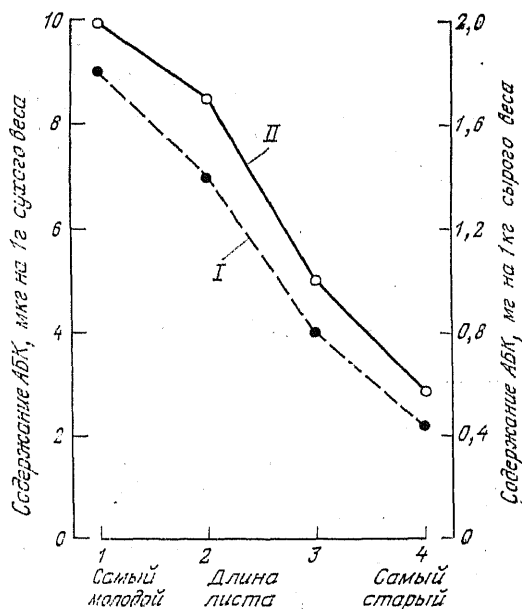
Большая часть работ по взаимосвязи между АБК и водным стрессом была проведена на взрослых листьях мезофитов, но, в сущности, такие же изменения происходят у ксерофитов и гидрофитов. В корнях обычно содержится гораздо меньше АБК, чем в надземных частях растения. При засухе содержание АБК в корнях возрастает, но никогда не достигает такого же высокого уровня, как в стеблях или листьях. В отношении листьев на побеге можно сказать, что у нормального растения, не испытывающего недостатка воды, больше всего АБК в самых молодых листьях (рис. 5.32). Может быть, именно благодаря этому высокому содержанию АБК скорость транспирации у самых

молодых листьев ниже, чем у более старых, т. е. возможно, что устьица молодых листьев постоянно закрыты или частично закрыты в связи с высокой концентрацией АБК. Это предположение было действительно подтверждено путем прямого измерения устьичного газообмена у листьев *Xanthium* разного возраста. У растений в условиях острого дефицита воды содержание АБК в молодых, растущих листьях увеличивалось даже сильнее, чем в более старых листьях (рис. 5.33). Конечно, молодые листья синтезируют больше АБК в условиях засухи, но по крайней мере частично накопление этого гормона является следствием притока АБК из более старых частей растения. Так или иначе, но в результате достигается наименьшая потеря воды из самых нежных молодых листочков.

Б. Цитокинины

В отличие от концентрации АБК концентрация цитокинина быстро уменьшается при помещении растений в условиях засухи. Имеется много данных, свидетельствующих о том, что цитокинины в вегетативном растении синтезируются главным образом в корневой системе, откуда по ксилеме они поступают в побеги. Различные опыты показали, что при высыхании почвы или при помещении корней в растворы таких осмотически активных веществ, как маннит или полиэтиленгликоль, транспорт

Рис. 5.32. Содержание АБК в листьях *Xanthium strumarium* разного возраста в расчете на сырой (I) и сухой (II) вес. Длина листьев: 1 — 3-4 см; 2 — 6,5-7,5 см; 3 — 9-10,5 см и 4 — 11-12 см. Самые молодые листья содержали больше всего АБК. (K. Raschke, J. A. D. Zeevaart, Plant Physiol., 58, 169—174, 1976.)



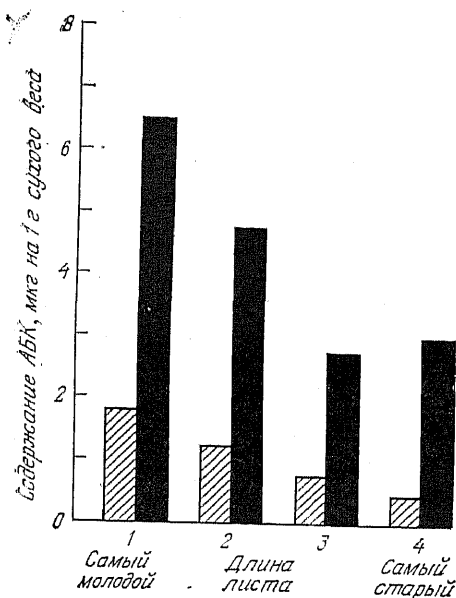


Рис. 5.33. Влияние подсушивания в течение 80 мин на содержание АБК в листьях *Xanthium strumarium* разного возраста. (K. Raschke, J. A. D. Zeevaart, Plant Physiol., 58, 169—174, 1976.)

Размеры листьев приведены в подписи к рис. 5.32. Заштрихованные столбики обозначают исходное содержание АБК в листьях каждого размера, а черные столбики — содержание АБК через 80 мин транспирации. Обратите внимание на то, что при подсушивании молодых листьев содержание АБК растет сильнее, чем при подсушивании более старых листьев.

цитокининов из корней в побег быстро и резко снижается. После снятия стресса поступление цитокинина из корней снова возрастает. Согласно имеющимся данным, синтез цитокининов в корнях замедляется при понижении водного потенциала листьев прежде, чем сами корни теряют тургор. Это говорит о том, что из листьев в корневую систему поступает какой-то сигнал, вызывающий замедление синтеза цитокинина. Природа этого сигнала пока неизвестна, хотя было высказано предположение, что его роль играет увеличивающееся количество АБК, поступающей из испытывающих недостаток воды листьев.

Одним из результатов уменьшения снабжения побега цитокининами являются старение листьев, а также закрывание устьиц. Как мы увидим ниже, опрыскивание растений цитокининами способствует открыванию устьиц.

В. Этилен

При оводнении растений после периода засухи может происходить усиленное опадение листьев. Эти наблюдения привели к исследованию влияния засухи на образование эндогенного этилена в растениях. Известно, что этилен играет чрезвычайно важную роль в процессе опадения листьев (см. гл. 12). У некоторых видов содержание этилена в растениях, находящихся в условиях засухи, быстро возрастает. Механизм усиления син-

теза этилена в ответ на недостаток воды неизвестен, но очень вероятно, что старение и опадение листьев и плодов в условиях засухи представляют собой ответную реакцию на увеличение концентрации этилена.

5.9.2. Влияние затопления

Характерной ранней ответной реакцией на затопление корневой системы у большинства растений являются: временное завядание листьев, снижение скорости растяжения междоузлий, чрезмерное утолщение стебля, явно эпинастический (направленный вниз) рост черешков, быстрое, преждевременное старение и опадение листьев. Все это говорит о сильных нарушениях в нормальном гормональном балансе растения.

Многие годы считалось, что затопление и засуха вызывают в растениях ряд сходных физиологических изменений, и это легко понять, поскольку и в том, и в другом случае нарушается нормальное поступление воды в растения. В условиях засухи эти нарушения вызываются постепенным уменьшением влажности почвы, а при затоплении анаэробизм в почве мешает нормальному функционированию корней, и их сопротивление водному току увеличивается. Однако недостаток воды в листьях при затоплении обычно не так велик, как во время засухи. Вместе с тем засуха в отличие от затопления не вызывает эпинастии листьев и утолщения стебля. Эпинастия и утолщение стеблей затопленных растений возникают в результате повышенного содержания этилена в их побегах. Эти проблемы мы обсудим более подробно в гл. 7 (с. 262). Старение листьев у затопленных растений определяется как повышенным содержанием этилена, так и сниженным поступлением цитокининов из корней, страдающих от анаэробизма почвы. Влияние этилена и цитокининов на старение листьев рассмотрено в гл. 12. Затопление корней также снижает поступление из корней в побег гиббереллинов, и это служит причиной снижения в данных условиях роста стебля растяжением. Содержание абсцизовой кислоты в побегах затопленных растений слегка увеличивается, но не так сильно, как у растений в условиях засухи. Быть может, это связано с меньшим дефицитом воды у затопленных растений в сравнении с растениями, подвергнутыми воздействию засухи.

5.9.3. Влияние обработки экзогенными гормонами в связи с водным стрессом

Были поставлены опыты с целью выяснить, можно ли обработкой препаратами фитогормонов стимулировать или устранить явления, связанные с недостатком воды. Полученные ре-

зультаты соответствуют тому, что можно было ожидать, основываясь на данных по изучению изменений в содержании эндогенных гормонов у растений, подвергнутых водному стрессу.

Так, обработка листьев цитокининами вызывает открывание устьиц и ускоряет транспирацию, в результате чего тургор растений понижается.

Обработка абсцизовой кислотой, наоборот, повышает тургор растений вследствие закрывания устьиц. Это влияние АБК подтверждает вывод о ее роли в движении устьиц, сделанный на основании изучения эндогенной АБК. Убедительные данные о значении АБК в регуляции тургора растений были получены в опытах на «завядающих» мутантах томатов (*Lycopersicon esculentum* с. v. *flacca*). Такие растения томатов содержат в десять раз меньше АБК, чем нормальные разновидности, и их устьица постоянно открыты. Однако если ежедневно опрыскивать завядающие мутанты томатов АБК, они полностью сохраняют тургор в течение нескольких дней и выглядят совершенно нормально. Помещение полосок эпидермиса с листьев удобных для таких опытов растений (в частности, *Commelina communis*) на растворы АБК также вполне определенно свидетельствует о том, что движение устьиц регулируется АБК путем подавления гормоном поступления K^+ в замыкающие клетки и распада крахмала в хлоропластах этих клеток.

Явления, вызванные затоплением, могут быть по крайней мере частично сняты обработкой соединениями, противодействующими этилену (например, двуокисью углерода) или цитокининами (которые уменьшают или предотвращают преждевременное старение листьев). Такое действие экзогенных соединений опять-таки можно предсказать на основании опытов по изменению эндогенных гормонов при затоплении корневой системы.

5.10. ФИТОГОРМОНЫ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ И САДОВОДСТВЕ

Продукция сельского хозяйства и садоводства на единицу обработанной земли очень сильно возросла в последние полвека. Это было достигнуто в результате введения новых улучшенных сортов растений, применения удобрений, пестицидов, фунгицидов и механизации, а также, и в очень сильной степени, в результате интенсивного использования различных химикатов, влияющих на развитие растений, но не являющихся питательными веществами.

В общем можно сказать, что увеличение продукции сельского хозяйства или садоводства на 1 га может быть достигнуто при использовании двух основных стратегических подходов:

1. Изменение условий среды в более благоприятную для культурных растений сторону.
2. Изменение культурного растения, с тем чтобы оно более соответствовало тем условиям внешней среды, в которой оно произрастает.

Изменение внешней среды в основном сводится к оптимизации водного режима (ирригация и дренаж) и количества неорганических питательных веществ (удобрения), а в садоводстве — к использованию теплиц (повышенные температуры и иногда обогащение воздуха CO_2). Очень важно также применение пестицидов и гербицидов для уменьшения конкуренции с другими видами растений.

Приспособление культурных растений к внешней среде всегда достигалось путем выведения новых сортов, но теперь появился второй подход, связанный с открытием различных химикатов (синтетических регуляторов роста растений), применение которых изменяет скорость роста и тип развития растений в желаемом направлении.

Набор химикатов, используемых в качестве гербицидов или регуляторов роста, очень велик и разнообразен. По структуре и функциям многие из них, хотя и не все, близки к природным фитогормонам.

Тот факт, что механизм действия фитогормонов неизвестен, не помешал использовать некоторые из них в практике сельского хозяйства и садоводства. Раньше других фитогормонов в широких масштабах начали использовать этилен, в атмосфере которого ускоряется созревание плодов. Этот прием часто применяют и в настоящее время. Кроме того, мы уже упоминали об использовании ауксинов и гиббереллинов для получения партенокарпических плодов (с. 203). Еще одно практическое использование ауксинов заключается в индукции цветения и, следовательно, плодоношения при опрыскивании плантаций ананасов таким веществом, как 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д). Весьма ценным также оказалось опрыскивание яблонь синтетическими ауксинами с целью предотвращения преждевременного опадения плодов. Обработка различными синтетическими ауксинами ускоряет также укоренение стеблевых черенков (рис. 5.34).

Как мы уже знаем (см. рис. 5.8, А), для ауксинов типично, что выше определенной концентрации они ингибируют, а не стимулируют рост. Слишком высокие концентрации ауксина, по-видимому, нарушают тонкую организацию роста. Растения, обработанные избыточными количествами ауксина, повреждаются, их листья эпинастически скручиваются, а стебли растрескиваются. Впоследствии они обычно погибают. Однако не все ауксины в равной мере токсичны, и различные виды растений в разной степени чувствительны к ауксинам.

Причина токсичности супраоптимальных концентраций ауксина неизвестна, но немаловажное значение имеет, по всей вероятности, стимуляция высокими концентрациями ауксина биосинтеза этилена. Несмотря на то что механизм гербицидного действия не вполне понятен, ауксины используют для уничтожения сорняков на полях злаков. Удаление сорняков механической обработкой трудоемко и дорого. Поэтому опрыскивание полей синтетическими ауксинами, такими, как 2,4-Д, приводящее к такому же результату, оказалось экономически очень важным. Конечно, не только ауксины, но и многие другие химические соединения, примененные в достаточно высоких концентрациях, ядовиты для растений и могут быть использованы в качестве гербицидов. Преимущество синтетических ауксинов, таких, как 2,4-Д, заключается в том, что они убивают растения при сравнительно низких концентрациях, относительно безвредны для животных, не вызывают коррозии, передвигаются по растению и попадают в недоступные опрыскиванию части, например корни, и, что наиболее важно, некоторые ауксины действуют *избирательно* и поэтому с их помощью можно уничтожить сорняки, не повредив соседствующие с ними культурные растения. Как правило, злаки очень устойчивы к обработке ауксинами, а ряд двудольных сорняков очень чувствителен к ним и погибает. Таким образом можно, например, ограничить распространение горчицы полевой (*Sinapis arvensis*) в посевах овса (*Avena*) или пшеницы (*Triticum*), а маргаритки (*Bellis perennis*) и подорожника (*Plantago* spp.) — в посевах кормовых трав.

Близок к 2,4-Д гербицид 2,4,5-Т (2,4,5-трихлорфеноксиуксусная кислота) (см. с. 120), который особенно ценен для избирательного уничтожения многолетних одревесневших сорняков, для чего он широко используется уже многие годы. Однако необходимо тщательно контролировать синтез 2,4,5-Т, чтобы избежать его загрязнения побочным продуктом 2,3,7,8-тетрахлор-

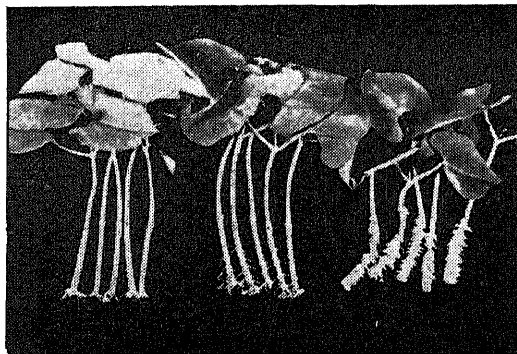
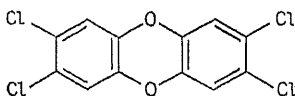


Рис. 5.34. Стимуляция образования корней у черенков фасоли. (Фотография любезно предоставлена д-ром L. C. Luckwill, Long Ashton Research Station.)

Слева. Контрольные черенки, не обработанные ауксином. В середине. Черенки, обработанные раствором нафтилуксусной кислоты (НУК, 5 мг/л). Справа. Черенки, обработанные 50 мг/л НУК.

дибензо-пара-диоксином (ТХДД):



ТХДД

2,3,7,8-Тетрахлордибензо-пара-диоксин

ТХДД — крайне токсичное и устойчивое к нагреву соединение (ЛД₅₀ для лабораторных животных составляет от 0,0006 до 0,115 мг/кг)г. Несомненно, что опасения относительно токсичности 2,4,5-Т возникли вследствие использования в некоторых районах препаратов, загрязненных ТХДД. Нормальная доза обработки 2,4,5-Т равна примерно 2,5 кг/га, и содержание ТХДД в препарате, изготавливаемом в промышленном масштабе, не должно превышать 0,1 части на миллион. Таким образом, обычно на 1 га площади попадает не более 2,5 мг ТХДД. Судя по результатам испытания действия ТХДД на лабораторных животных, в организм человека весом 45 кг должен попасть весь ТХДД примерно с 0,8 га земли, чтобы оказать на него какое-то вредное воздействие.

Избирательное действие ауксинов зависит от ряда факторов. Очень часто чувствительными являются двудольные растения с горизонтально расположенными широкими листьями, на которых после опрыскивания раствор задерживается, а устойчивыми — растения, часто однодольные, с узкими, вертикально направленными листьями, с которых капельки легко скатываются. Кроме того, эпидерма у одних растений более проницаема для растворов ауксина, чем у других. Другая причина избирательности в действии гербицидов при обработке ими почвы связана с их растворимостью в воде. Например, слабополярный гербицид может адсорбироваться в поверхностных слоях почвы. Отсюда он поглощается сорняками с неглубоко расположенной корневой системой, которые вследствие этого погибают, а культурные растения с более глубоко расположенными корнями не повреждаются. И наоборот, если корни культурных растений расположены неглубоко, то можно использовать более полярный гербицид, который просочится вниз и поглотится глубоко укорененными сорняками. Однако более важное значение, чем все эти факторы, имеет наследственное различие в чувствительности живых клеток различных видов растений к синтетическим ауксинам.

В борьбе с сорняками в настоящее время наиболее широко используются синтетические ауксины 2,4-Д, 2,4,5-Т и МХФК (рис. 4.1) или различные их смеси. Природный ауксин большинства видов растений, ИУК, мало эффективен как гербицид,

возможно, вследствие его быстрого ферментативного разрушения в обрабатываемых растениях (с. 87).

Не все гербициды характеризуются избирательным действием, и ряд гербицидов неауксиновой природы используют, чтобы уничтожить всю растительность перед севом или для обработки междурядий культурных растений. Хорошо известными примерами таких гербицидов тотального действия являются бипиридилиумс, паракват и дикват (граммоксон или видол); крайне ценным в экономическом отношении оказался также сравнительно недавно введенный в практику глифозат [N-(фосфометил)глицин], известный под названием «раундап» или «тамблвид». Механизм действия неауксиновых гербицидов не вполне понятен; многие из них подавляют фотосинтез, но могут оказывать и различные другие неблагоприятные воздействия, приводящие к гибели растений.

Гиббереллины, как и ауксины, могут столь же успешно использоваться в сельскохозяйственной практике. Значение гиббереллинов при индукции партенокарпических плодов только еще начинают по-настоящему оценивать, так как они часто эффективны для тех видов растений, у которых ауксины не сти-

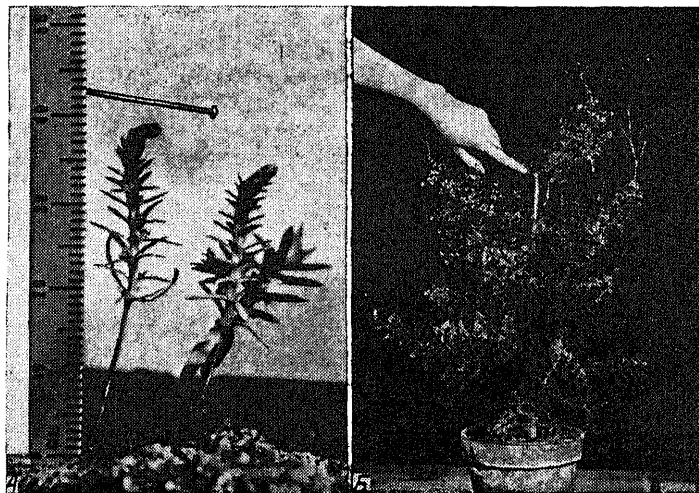


Рис. 5.35. Ускорение репродуктивного созревания деревьев под действием гиббереллина. (R. P. Pharis, J. N. Owens, Yale Sci. Mag., 41, 10, 1966. Фотография любезно предоставлена проф. R. Pharis.)

А. Четырехмесячная *Thuja placcata* (туя гигантская, западный красный кедр), у которой после опрыскивания гибберелловой кислоты (GA_3) на верхушке появилась мужская шишка. Б. Шестнадцатимесячный сеянец *Cupressus arizonica* (аризонский кипарис) в течение 4 мес опрыскивали GA_3 ; на растении около 8000 шишек, из которых 50 — женские.

мулируют завязывание плодов. У некоторых видов, таких, как томаты, гиббереллины и ауксины проявляют синергизм в индукции завязывания плодов. Обработка гиббереллинами винограда (*Vitis* spp.) приводит к вытягиванию гроздей (и это уменьшает порчу отдельных ягод), к увеличению числа и размеров ягод. Растения земляники, обработанные гибберелловой кислотой, обычно цветут и, следовательно, плодоносят раньше, чем необработанные растения. Было обнаружено, что гибберелловая кислота задерживает созревание плодов на citrusовых деревьях, а также улучшает окраску кожуры плодов у некоторых сортов.

Очевидное практическое значение имеет также прерывание покоя и ускорение прорастания семян многих видов растений (с. 403). Гиббереллины также начинают цениться при выведении новых древесных пород. Так, обработка гиббереллинами проростков весьма важных в экономическом отношении хвойных растений приводит к тому, что они «зацветают» уже через 4—6 лет, тогда как обычно на это требуется 10—20 лет (и еще проходит до 20 лет прежде, чем они дадут значительное количество семян). Обработка гиббереллином небольших проростков некоторых хвойных (особенно представителей семейства *Cupressaceae* и *Taxidiaceae*) приводит к их цветению, хотя обычно в таком молодом возрасте образуется гораздо больше мужских, чем женских шишек (рис. 5.35).

Экономическую пользу уже приносит использование гибберелловой кислоты для увеличения длины черешков и общего урожая черешков листьев при разведении ревеня и сельдерея (рис. 5.36).

Но, может быть, наиболее важным применением гиббереллинов до настоящего времени является их использование при приготовлении солода. При этом семена ячменя проращивают в течение нескольких дней, а затем такие проросшие семена используют для приготовления среды для дрожжевой ферментации при пивоварении. Цель проращивания семян заключается в том, чтобы превратить запасные вещества эндосперма в другие вещества, более пригодные в качестве субстрата для роста дрожжей. Так, например, крахмал превращается в сахара под влиянием таких гидролитических ферментов, как α -амилаза, образующаяся при прорастании в клетках алейронового слоя (с. 148). В связи со стимуляцией гиббереллинами синтеза α -амилазы (с. 148) обработка семян ячменя гибберелловой кислотой ускоряет образование солода и позволяет более строго контролировать этот процесс. Благодаря этому экономится время и получается больше продуктов, накапливающихся в солоде.

Ряд химикатов, широко используемых для регуляции роста растений, составляет группу так называемых *ретардантов*. Ре-

тардантами являются такие изготавливаемые промышленностью препараты, как В-9 (алар), АМО-1618, Сайкосел (ССС или хлормекват), фосфон D и анцимидол (EL-531). Они применяются для укорочения побегов декоративных растений (например, хризантем, пойнцианы, *Coleus*, петуний и др.), в результате чего получают желаемые более компактные формы. Точно так же эти препараты используют для укорочения и укрепления стеблей некоторых злаков, в частности пшеницы, что препятствует «полеганию» (т. е. сгибанию побегов от сильного дождя и ветра, что очень затрудняет уборку урожая и может вызвать преждевременное прорастание семян). Ретарданты применяют и во многих других случаях: для усиления интенсивности цветения и завязывания плодов, укоренения черенков, образования клубней и луковиц, для повышения устойчивости к засухе, холоду и засоленности почвы. Физиологический и биохимический механизмы полезного влияния этих веществ обычно мало известны, но по крайней мере некоторые из них действуют, подавляя биосинтез гиббереллинов в растениях (см. с. 96). Существуют и некоторые другие нефитотоксичные химические ингибиторы роста, используемые в сельском хозяйстве и садоводстве, такие, как гидразид малеиновой кислоты и морфактин (произ-

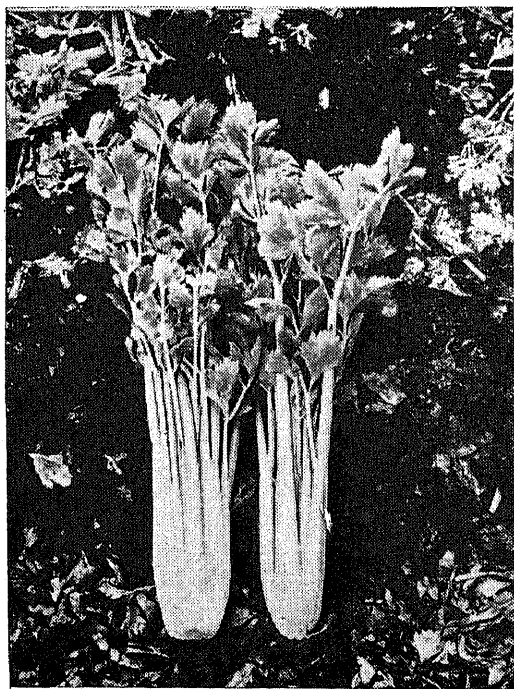
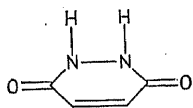


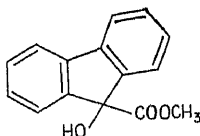
Рис. 5.36. Влияние опрыскивания гибберелловой кислотой (ГАЗ) на урожай сельдерея. (Фотография любезно предоставлена д-ром Т. Н. Thomas, National Vegetable Research Station, Wellesbourne, U. K., и д-ром A. Whitlock, Arthur Rickwood Experimental Husbandry Farm, Ely, U. K.)

Слева. Опрыскивание ГАЗ в концентрации $100 \text{ мг} \cdot \text{дм}^{-3}$.
Справа. Необработанный контроль.

водное флуорен-9-карбоновой кислоты, например IT-3465), но эти соединения, очевидно, не влияют на биосинтез гиббереллинов:



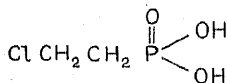
Гидразид малеиновой кислоты



*ИТ-3465; морфактин
(метил-2-хлор-9-окси-флуорен-9-карбоксилат)*

Очень вероятно, что некоторые из синтетических цитокининов в будущем начнут широко применяться для задержания старения цветков и овощей.

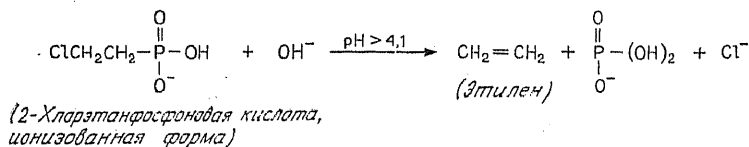
Как мы уже говорили, этилен в течение ряда лет использовали для ускорения созревания (один из аспектов старения) плодов некоторых растений, в частности цитрусов, например апельсинов и лимонов. Кроме того, тот факт, что этот газ является мощнейшим стимулятором опадения листьев, открывает возможность использования его в качестве дефолианта для таких культур, как хлопчатник, горох, фасоль и т. д., когда присутствие листьев затрудняет сбор урожая. Однако поскольку этилен — это газ, он не слишком пригоден для использования вне оранжерей. В связи с этим исследователи попытались найти другие химикаты, стимулирующие опадение листьев. Теперь известно несколько таких веществ, и наиболее эффективны те из них, которые ускоряют синтез этилена в обработанных ими растениях. В последнее время усилия направлены на поиски таких веществ, которыми можно было бы опрыскивать растения, а затем уже в растениях эти вещества распадались бы с образованием этилена. Примером такого вещества является 2-хлорэтанфосоновая кислота, известная под названием этрел или этефон



2-Хлорэтанфосоновая кислота

Это соединение при pH выше 4,1 подвергается химическому разложению. Поскольку pH клеток растений обычно выше 4,1, водный раствор этрела после поступления в ткани будет разла-

гаться с высвобождением этилена:



Следовательно, этрел вызывает у растений такие же физиологические ответные реакции, как этилен; он постепенно вводится в практику сельского хозяйства и садоводства. Уже сейчас его широко используют для ускорения тока латекса из каучуконосных деревьев и для ускорения созревания плодов и опадения листьев. Его также начинают применять для регуляции ветвления и образования боковых побегов у сельскохозяйственных и декоративных растений.

Несомненно, что в будущем синтетические фитогормоны и близкие к ним соединения будут использоваться в практике шире и разнообразнее, чем сейчас. Однако полностью реализовать их потенциальные возможности мы сможем только тогда, когда больше узнаем об их функциях и способе действия у растений.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Ashton F. M., Crafts A. S., 1973. Mode of Action of Herbicides, Wiley—Interscience, New York.
- Abeles F. B., 1973. Ethylene in Plant Biology, Academic Press, New York and London.
- Albersheim P. (1975). The walls of growing plant cells, Scientific American, 232(4), 80—95.
- Audus L. J., 1972. Plant Growth Substances, 3rd ed., L. Hill Ltd., London.
- Hill T. A., 1973. Endogenous Plant Growth Substances, Edward Arnold, London.
- Morey P. R., 1973. How Trees Grow, Edward Arnold, London.
- Nitsch J. P., 1971. Perennation through seeds and other structures: Fruit development. In: F. C. Steward (ed), Plant Physiology—a Treatise, Academic Press, New York, pp. 413—501.
- Pilet P. E. (ed.), 1977. Proc. 9th Int. Conf. Plant Growth Regulating Substances, Plant Growth Regulation, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg.
- Pimental D., Pimental M., 1979. Food, Energy and Society, Edw. Arnold, London.
- Weaver R. J., 1972. Plant Growth Substances in Agriculture, W. H. Freeman, San Francisco.
- Wilkins M. B. (ed.), 1969. Physiology of Plant Growth and Development, McGraw-Hill, London.

Специальная литература

- Articles by: Dickenson P. B., Dicks J. W., Hudson J. P., Kapoor J. K., Turner J. N., Luckwill L. C., Nickell L. G., Parham M. R., Pharis R. P., Ross S. D., Thomas T. H., Wareing P. F., 1976. In: Outlook on Agriculture, 9, No. 2 (Growth Regulation Issue).
- Audus L. J. (1959). Correlations, J. Linn. Soc. (Bot.), 56, 177.
- Brian P. W. (1966). The gibberellins as hormones, Int. Rev. Cytology, 19, 229.
- British Plant Growth Regulator Group Monographs. No. 1, Opportunities for Chemical Plant Growth Regulation, 1978. No. 2, The Effect of Interactions between Growth Regulators on Plant Growth and Yield, 1978. No. 3, Differentiation and the Control of Development in Plants—Potential for Chemical Modification, 1979. No. 4, Recent Developments in the Use of Plant Growth Retardants, 1980. Published by British Plant Growth Regulator Group, A. R. C. Letcombe, Wantage, U. K.
- Catesson A. M., 1974. Cambial cells, Chapter 10. In: A. W. Robards (ed.), Dynamic Aspects of Plant Ultrastructure, McGraw-Hill, London.
- Champagnat P. Physiologie de la croissance et l'inhibitions des bourgeons: Dominance apicale et phenomenes analogues. In: Encyc. Plant Physiol., 15 (1).
- Coombe B. G. (1976). The development of fleshy fruits, Ann. Rev. Plant Physiol., 27, 207—228.
- Crane J. C. (1964). Growth substances in fruit setting and development, Ann. Rev. Plant Physiol., 15, 303.
- Goldsmith M. H. M. (1977). The polar transport of auxin, Ann. Rev. Plant Physiol., 28, 439—478.
- Goodwin P. B., 1978. Phytohormones and growth and development of organs of the vegetative plant. In: Phytohormones and Related Compounds—A Comprehensive Treatise, vol. II (eds. D. S. Letham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 31—173.
- Goodwin P. B., 1978. Phytohormones and fruit growth. In: Phytohormones and Related Compounds—A Comprehensive Treatise, vol. II (eds. D. S. Letham, P. Goodwin and T. J. V. Higgins), Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 195—214.
- Goodwin P. B., Gollnow B. I., Letham D. S., 1978. Phytohormones and growth correlations. In: Phytohormones and Related Compounds—A Comprehensive Treatise, vol. II (eds. D. S. Letham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 215—249.
- Hall M. A., 1976. The cell wall, Chapter 2. In: M. A. Hall (ed.), Plant Structure, Function and Adaptation, MacMillan Press, London.
- Jones R. L. (1973). Gibberellins: Their physiological role, Ann. Rev. Plant Physiol., 24, 571—598.
- Luckwill L. C. (1967). Hormonal aspects of fruit development in higher plants, Symp. Soc. Exp. Biol., 11, 63.
- Moreland D. E. (1980). Mechanisms of action of herbicides, Annual Review of Plant Physiology, 31, 597—638.
- Nitsch J. P. (1952). Plant hormones in the development of fruits, Quart. Rev. Biol., 27, 33.
- Pallos F. M., Casida J. E. (eds.). 1978. Chemistry and Action of Herbicide Antidotes, Academic Press, New York.
- Phillips I. D. J., 1976. The cambium, Chapter 10. In: M. M. Yeoman (ed.), Cell Division in Higher Plants, Academic Press, London and New York, pp. 347—390.
- Phillips I. D. J., 1969. Apical dominance. In: The Physiology of Plant Growth and Development (M. B. Wilkins, ed.), McGraw-Hill, London, pp. 163—202.
- Phillips I. D. J. (1975). Apical dominance, Ann. Rev. Plant Physiol., 26, 341—367.
- Preston R. D., 1974. Plant cell walls, Chapter 7, In: A. W. Robards (ed.), Dynamic Aspects of Plant Ultrastructure, McGraw-Hill, London.

- Sachs R.* (1965). Stem elongation, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **16**, 73.
- Scott T. K.* (1972). Auxins and roots, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **23**, 235—258.
- Street H. E.* (1966). The physiology of root growth, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **17**, 315.
- Torrey J. G.* (1966). Root hormones and plant growth, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **27**, 435—459.
- Wareing P. F.* (1977). Growth substances and integration in the whole plant, *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **31**, 337—365.
- Wareing P. F., Hanney C. E. A., Digby J.*, 1964. The role of endogenous hormones in cambial activity and xylem differentiation. In: *The Formation of Wood in Forest Trees* (M. M. Zimmerman, ed.), Academic Press, New York.
- Wightman F., Setterfield G. (eds.)*, 1969. *Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances*, Runge Press, Ottawa.
- Wittwer C. H.* (1971). Growth regulants in agriculture, *Outlook on Agriculture*, **6**, 206—217.
- Wright S. T. C.*, 1978. Phytohormones and stress phenomena. In: *Phytohormones and Related Compounds—A Comprehensive Treatise*, vol. II (eds. D. S. Leatham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 495—536.

Глава 6

Методы стерильной культуры при изучении дифференцировки

6.1. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ МЕТОДА КУЛЬТУРЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ

В предшествующих и последующих главах этой книги рассматриваются различные аспекты морфогенеза и ряд экспериментальных подходов, используемых в этой области. Ни один из аспектов ботанического исследования не может дать единой картины дифференцировки, а при изучении дифференцировки необходимо стремиться к объединению информации, получаемой с помощью морфологических, физиологических, биохимических и биофизических методов. Задача эта нелегка, так как в целом растении происходит сложное взаимодействие между различными процессами, лежащими в основе роста и дифференцировки. Следовательно, желательно упростить систему, с тем чтобы можно было легче идентифицировать и изучать регуляторные процессы. Степень упрощения может быть различной. Можно изолировать зародыши и другие части растений, чтобы при изучении их поведения избежать определенных усложняющих ситуацию корреляционных влияний. В общем изолированные зародыши и части растений необходимо выращивать тщательно соблюдая условия культивирования, чтобы сохранить их живыми и избежать заражения микроорганизмами. Это достигается с помощью *методов стерильной культуры*. Такие методы часто облегчают сохранение изолированных зародышей, органов и тканей в течение длительного периода. Однако для первых исследователей культивирование изолированных тканей, органов и зародышей растений представляло значительные трудности, которые только со временем были преодолены.

Наименьшая жизнеспособная часть растения, которая, как сейчас считается, может размножаться, расти и развиваться в культуре, — это одна клетка. Еще в 1902 г. Габерландт попытался выращивать отдельные клетки растений в стерильной культуре, но по разным понятным нам теперь причинам потерпел неудачу.

Вслед за Габерландтом другие исследователи разработали методы культивирования изолированных органов и тканей. Первыми были успешно выращены в стерильной культуре корни растений, и Уайт в 30-ых годах показал, что в соответствующей питательной среде такие корни растут и в них дифференцируются нормальные характерные для корней ткани. В работе

Готре (1939) и других было показано, что в стерильной культуре можно сохранять и растить кусочки запасающих тканей, например из корней моркови. От таких изолированных тканей и произошла *культура каллусов*, на которой было исследовано влияние питательных веществ, витаминов и гормонов на клеточное деление, дифференцировку проводящих тканей и на появление участков организованной меристемы преимущественно в паренхимной ткани. По определению каллус — это масса пролиферирующей ткани, состоящей главным образом из паренхимных клеток, в которой, однако, при подходящих условиях может происходить дифференцировка.

При выращивании каллуса в жидкой питательной среде на качалке от его поверхности часто отрываются клетки, которые свободно плавают в жидкости, образуя *суспензионную культуру клеток*. Обычно такие свободные клетки не делятся, если они остаются в среде, пригодной для роста каллуса, так как для размножения свободных клеток растения необходима более сложная среда, чем для размножения клеток каллуса, и такая среда, в которой могут размножаться свободные клетки растений, была разработана.

6.2. КУЛЬТУРА ОРГАНОВ

6.2.1. Культура корней

Оказалось, что в стерильной культуре можно выращивать несколько типов органов растений, в том числе корни, стеблевые апексы, листья, части цветков и плоды. Потребности в питательных веществах при таком культивировании органов различаются в зависимости от вида растения и типа органов, но, конечно, имеются некоторые общие черты. Интактные высшие растения автотрофны, т. е. они могут синтезировать все необходимые для их жизни органические вещества из двуокиси углерода, кислорода и минеральных элементов. Однако в стерильной культуре в большинстве случаев фотосинтез не идет. Поэтому необходимо вносить в среду источник углерода, обычно предоставляемый в форме сахаров, таких, как сахароза или глюкоза. Кроме того, в стерильную культуру нужно добавлять такие же минеральные питательные вещества, которых требует интактное растение: макроэлементы (азот, фосфор, калий и кальций) и микроэлементы (Mg, Fe, Mn, Zn и т. п.).

Было обнаружено, что помимо источника углерода и минеральных питательных веществ изолированные органы в большинстве случаев нуждаются также и в некоторых специфических органических веществах. Так, при выращивании в стерильной культуре корней обычно нужно добавлять в среду некоторые витамины, в частности тиамин (витамин В₁) и иногда пи-

ридоксин (витамин В₆), никотиновую кислоту и другие. Очевидно, в целом растении ряд витаминов синтезируется в листьях, и корни, будучи неспособными к их синтезу, зависят от поступления этих веществ из побега. Для роста корней томатов нужны только сахара, минеральные элементы и тиамин, и на такой среде они могут успешно расти в культуре многие годы.

Изолированные корни некоторых однодольных не могут расти даже при добавлении витаминов, в том числе полного набора витаминов группы В и других. В некоторых из этих случаев (примером является рожь) корни могут расти, если в среду добавить ауксин. Для поддержания культуры изолированных корней нужны регулярные пересадки на свежую питательную среду. Для этого отрезают кусочки корня с боковыми корешками и переносят на новую среду, где они продолжают быстро расти; таким образом поддерживается культура.

Изолированные корни большинства видов растений в культуре образуют только ткани корня, но при культивировании корней некоторых видов происходят регенерация стеблевых почек, а также формирование новых корней. Примером могут служить *Convolvulus*, одуванчик (*Taraxacum officinalis*) и щавель (*Rumex crispus*).

6.2.2. Культура апексов побегов и листьев

Изолированные апикальные меристемы и листовые примордии также можно выращивать в стерильной культуре. Часто на них развиваются придаточные корни и в конце концов могут вырасти целые растения. У сосудистых споровых растений, таких, как папоротники, апексы побегов и листья сравнительно более автотрофны, чем у покрытосеменных. Поэтому даже маленькие апексы папоротников могут расти на среде, содержащей только углеводы и минеральные соли. Для выращивания маленьких апексов покрытосеменных (диаметром менее 0,5 мм) к основной среде необходимо добавлять какой-то источник органического азота и некоторые специфические аминокислоты и витамины, но более крупные апексы растут на простой среде. Это снижение требований к среде у крупных апексов может быть связано с тем, что они содержат более развитые листовые примордии, которые, очевидно, в какой-то мере обеспечивают верхушку витаминами и другими органическими питательными веществами.

Стерильная культура стеблевых апексов экономически важна для получения безвирусных линий некоторых культурных растений. Во многих обычно вегетативно размножающихся растениях, таких, как картофель, малина, гвоздика, герань, ревень, яблоня и другие плодовые деревья, постепенно накапливаются вирусы, ослабляющие их. Однако верхушки побегов, которые

часто остаются незараженными, можно изолировать, выращивать в стерильной культуре и получать из них свободные от вирусов растения.

Молодые листья папоротника *Osmunda cinnamomea*, подсолнечника (*Helianthus annuus*) и табака (*Nicotiana tabacum*) успешно выращивали на простой среде, содержащей только сахарозу и неорганические соли (рис. 2.12). Такие изолированные листовые примордии продолжали расти, пока не развивались в нормальные, дифференцированные листья, хотя обычно они были гораздо мельче листьев, развивающихся на растении (с. 56).

6.3. КУЛЬТУРА ЗАРОДЫШЕЙ

Ранее (с. 40) мы рассматривали нормальное развитие зародышей, происходящее в эмбриональных мешках. В последние годы для экспериментального изучения эмбриогенеза растений очень часто используют стерильную культуру изолированных молодых зародышей.

Самый простой способ культивирования зародышей заключается в том, чтобы позволить им развиваться *in situ* внутри завязи или изолированного семязачатка. В семязачатке, помещенном в подходящую питательную среду, зигота может развиваться вплоть до созревания. Ткани плаценты помогают развитию семязачатка и зародыша. Поэтому стерильно культивировать семязачатки легче всего, очевидно, если их оставлять внутри завязи. Для семязачатков не характерна видовая специфичность в отношении физиологических потребностей, так как оплодотворенные семязачатки самых разных видов растений, пересаженные на плаценту из плодов *Capsicum*, вырастали до зрелых семян.

Если внутри семязачатков зародыши можно легко вырастить в культуре от зиготы до зрелого состояния, то их потребности в питании при изоляции из семязачатков очень усложняются. Конечно, зрелый зародыш автотрофен и будет расти при его помещении в условия, нормальные для прорастания, т. е. при соответствующем снабжении водой и кислородом и при благоприятной температуре. Однако было обнаружено, что зародыши, изолированные на более ранних стадиях, не растут даже при снабжении их сахарозой и минеральными солями.

Полезный способ культивирования молодых зародышей был предложен в 1941 г. ван Овербиком, который обнаружил, что совсем незрелые зародыши можно выращивать на среде, содержащей сахарозу, минеральные соли и кокосовое молоко, представляющее собой жидкий эндосперм. Этот эндосперм содержит полный набор веществ, необходимых для роста и развития зародышей кокосовой пальмы, но он также очень эффективен при

поддержании роста зародышей других видов. Были предприняты попытки идентифицировать активные компоненты кокосового молока, и теперь известно, что в его состав входят многоатомный спирт миоинозит, лейкоантоцианы, цитокинины и, очевидно, ауксины и гиббереллины. С помощью этого метода стало возможно выращивать до зрелого состояния зародыши некоторых видов, изолированные на ранних стадиях.

По мере развития зародышей они становятся менее гетеротрофными. Это было показано на изолированных зародышах *Capsella* и *Datura*. Глобулярные зародыши вообще не выжидали в культуре. Зародыши сердцевидной формы (см. рис. 2.2) на ранней стадии развития могли расти на питательной среде, содержащей сахар, неорганические соли, витамины и кокосовое молоко. При выращивании более поздних изолированных сердцевидных зародышей кокосовое молоко можно было заменить таким источником восстановленного азота, как L-глутамин, а при культивировании еще более поздних зародышей можно было не добавлять даже и глутамин. Таким образом, по мере развития зародыша наблюдается прогрессивное увеличение его биосинтетических способностей.

Вместе с тем более новые данные показывают, что концепция уменьшения степени гетеротрофности с увеличением возраста зародышей, строго говоря, не совсем верна. Даже молодые глобулярные зародыши *Capsella* можно вырастить до зрелого состояния в сравнительно простой среде, не содержащей ни источника органического азота, такого, как L-глутамин, ни высокой концентрации сахарозы. Но среда помимо обычных неорганических солей, витаминов и 2% сахарозы должна содержать сбалансированную смесь очень низких концентраций (около 10^{-7} М) ауксина (например, ИУК), цитокинина (например, кинетина) и сульфата аденина. По-видимому, по крайней мере в случае *Capsella*, определяющую роль в эмбриогенезе играет это соотношение фитогормонов в непосредственном окружении зародыша, а не содержание питательных веществ.

6.4. КУЛЬТУРА ТКАНЕЙ

В отличие от метода культуры органов при культуре тканей стерильно выращивают изолированную гомогенную массу клеток. Все органы растения во время их изоляции состоят из ряда различного типа тканей и, следовательно, представляют собой более сложную систему, чем изолированные индивидуальные ткани. При изучении физиологии и биохимии морфогенеза желательно работать с наиболее простой системой. Поэтому совершенно ясно, что культура изолированных тканей представляет собой более простой экспериментальный материал, чем культура органов. К тому же ткани из различных источников

можно поддерживать в культуре неопределенно долго; таким образом, культура ткани предоставляет огромные и пока еще не вполне раскрытые возможности для исследований в области физиологии и биохимии. Так, для определенных биохимических исследований культура тканей оказалась чрезвычайно важной. Например, на культуре камбиальной ткани явора (*Acer pseudo-platanus*) были проведены обстоятельные исследования метаболизма клеточной стенки. Ниже мы приведем несколько примеров использования культуры тканей при изучении процессов дифференцировки.

Если маленькие кусочки паренхимы из корневой флоэмы моркови (*Daucus carota*), или из сердцевинной паренхимы стебля табака (*Nicotiana tabacum*), или даже содержащие хлорофилл палисадные клетки из листьев *Arachis hypogea* и *Crepis capillaris* поместить на подходящую среду, то можно не только сохранить их живыми, но и вызвать их рост. Это значит, что дифференцированные клетки паренхимы или мезофилла, которые, находясь в растении, уже перестали делиться, вновь приступают к митотическим делениям, образуя недифференцированный *каллус*. Наиболее яркий пример сохранения у дифференцированных растительных клеток способности к делению был получен при культивировании каллуса из ткани сердцевинного луча 50-летней липы (*Tilia*). Эти клетки достигли зрелости целых полвека тому назад, и все же они были потенциально способны к активному клеточному делению, что и проявилось при их помещении в подходящие для этого условия.

По-видимому, всякая живая растительная ткань, состоящая из содержащих ядра клеток, при ее изоляции и помещении в подходящую культуральную среду может образовывать делящийся, недифференцированный каллус. Однако получить каллус первый раз из нового растительного материала часто довольно трудно, так как потребности в питательных веществах у тканей, взятых от различных видов растений или даже из разных частей одного растения, очень различны. В общем оказалось легче культивировать исходно незеленые, паренхимные ткани, такие, как паренхима флоэмы или сердцевины. Получать зеленые, фотосинтезирующие каллусы из содержащих хлоропласты клеток листьев научились гораздо позже.

Было обнаружено, что для культуры изолированных тканей часто помимо обычных неорганических солей, микроэлементов и источника органического углерода необходимы: 1) органический источник восстановленного азота, вносимый в виде аминокислот или для некоторых видов в виде амида глутаминовой кислоты L-глутамина; 2) витамины, в том числе тиамин, никотиновая кислота и пиридоксин, и 3) многоатомный спирт миоинозит. Кроме того, необходимо присутствие ауксина, такого, как 2,4-Д, и иногда цитокинина. Поскольку в отличие от куль-

туры органов при культивировании каллуса необходимо добавлять гормоны, очевидно, что организованные меристемы культивируемых органов могут быть центрами биосинтеза гормонов, тогда как клетки паренхимы, из которых возникает каллус, не обладают способностью к синтезу гормонов.

Интересно отметить, что фотосинтезирующие каллусы, полученные из клеток палисадного мезофилла *Arachis hypogea*, не нуждаются во внесении в среду каких-либо витаминов. Это может быть связано с тем, что, как мы уже говорили, витамины в норме образуются в листьях растений и оттуда поступают в другие его части, например в корни.

Длительное пассирование тканей некоторых растений, таких, как морковь, виноград, *Scorzonera*, табак и другие, приводит к спонтанному и необратимому изменению этих тканей, а именно они приобретают способность к синтезу достаточно больших количеств ауксина. В результате ткань, которая при ее введении в культуру требовала добавки в среду ауксина и цитокинина, позднее при культивировании становится автотрофной в отношении этих гормонов. Такие длительно пассируемые культуры каллуса называют *привычными*. Они скорее напоминают опухолевую ткань, чем нормальные ткани растения. Например, у растений, зараженных бактерией, вызывающей образование корончатых галлов (*Agrobacterium tumefaciens*, или *Phytoplasma tumefaciens*), в местах инфекции разрастается опухолевая каллусоподобная ткань. Если соответствующей температурной обработкой убить бактерии и перенести часть одной из таких обработанных опухолей в стерильную культуру, то легко образуется очень быстро растущий каллус, совершенно не зависящий от добавки в среду ауксина и цитокинина. Таким образом, как зараженные клетки, так и клетки привыкшего каллуса подвергаются устойчивому изменению, в результате чего они приобретают способность к синтезу веществ, которые они раньше не могли образовывать. Эта способность передается от одного поколения клеток к другому и, возможно, осуществляется путем переноса бактериальной ДНК в клетку растения (см. с. 477). В настоящее время исследуют плазмиду *Agrobacterium*, считая, что ее можно будет использовать для введения «полезных» генов в культурные растения.

6.5. СУСПЕНЗИОННАЯ КУЛЬТУРА РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК

Суспензионная культура состоит из небольших групп клеток, диспергированных и растущих в перемешиваемой жидкой среде. Основная трудность, с которой сталкивались исследователи при первых попытках получить делящиеся в культуре оди-

ночные клетки и их небольшие группы, заключалась в том, что одиночные клетки «текут». В отличие от клеток каллуса, окруженных такими же клетками, изолированные растительные клетки в перемещиваемой жидкой среде по ряду причин, в частности из-за их большой поверхности соприкосновения с жидкой средой, теряют какие-то вещества, необходимые для деления, которые выходят в среду. Следовательно, потребности в питательных веществах у свободных клеток растений и их небольших агрегатов могут быть сложнее, чем у каллусов, полученных от тех же видов, так как в среду нужно добавлять те вещества, которые утрачиваются клетками. Пищевые потребности некоторых типов клеток были точно выяснены, и теперь эти клетки можно выращивать на определенной среде, в состав которой обычно входят различные компоненты, которые мы уже перечисляли, говоря о культуре каллусов (с. 236). В других случаях оказалось невозможным поддерживать культуру клеток на такой составленной из определенных компонентов среде, и поэтому необходимо было добавлять кокосовое молоко, в состав которого, очевидно, входят какие-то еще неизвестные особые факторы.

Хотя еще не все проблемы, связанные с составлением сред для выращивания колоний клеток различных растений, решены, мы уже можем обрисовать общую картину. Удивительно то, что требования к среде для суспензионной культуры клеток и для развития молодых зародышей очень близки (с. 234—235). В интактном растении эти потребности удовлетворяют окружающие ткани, в частности в случае зародышей — эндосперм.

Растительные клетки в суспензионной культуре очень похожи друг на друга независимо от вида растения, из которого они взяты. Для клеток в суспензионной культуре характерно, что 1) они содержат многочисленные и крупные вакуоли, даже если клетки способны к делению; 2) хорошо различимые цитоплазматические тяжи, свидетельствующие об активно движущейся цитоплазме; 3) крупное ядро с ядрышком (рис. 6.1, *слева*). Кроме того, в каждой суспензии клеток сосуществуют клетки различных типов, и только некоторые из них представляют собой одиночные свободные клетки. Некоторые свободные клетки делятся, и возникают скопления из более мелких и плотных клеток. Другие увеличиваются в размерах, и в них образуются поперечные внутренние стенки, в результате чего получается либо нить из клеток, либо в некоторых случаях новые свободные клетки «отпочковываются» наподобие дрожжевых клеток в культуре (рис. 6.1, *справа*). Таким образом, морфология клеток высших растений в суспензионной культуре отличается от морфологии клеток в ткани, из которой они были получены. Кроме того, они, очевидно, отличаются и по типу метаболизма, так как обычно не содержат типичных запасных веществ.

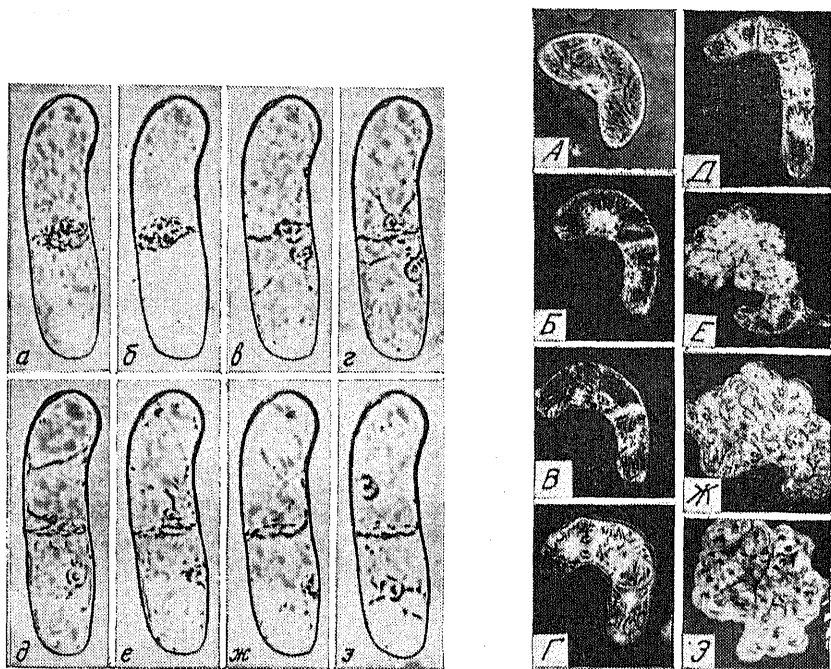


Рис. 6.1. Слева. Деление одиночной изолированной клетки *Phaseolus vulgaris*. Обратите внимание на крупную вакуоль, четко видимые цитоплазматические тяжи и большое ядро с ядрышком. Время между кадрами а, б, и в составляет 30 мин, а между кадрами г, д, е, ж и з — 60 мин. (Из Journal of General Physiology, 43, 843, 1959—1960. Снимки предоставлены д-ром L. Bergmann с любезного разрешения издательства Рокфеллеровского университета.)

Справа. Развитие группы клеток из одиночной клетки, изолированной из сердцевинки стебля табака и выращиваемой в стерильной культуре. А. Одиночная клетка через 1 сут после помещения ее в культуральную среду. Б—З. Стадии образования из одной клетки группы клеток. (W. Vasil, A. C. Hildebrandt, Science, 150, 889—892, 1965. Фотография предоставлена д-ром A. C. Hildebrandt.)

В идеальном случае в сосуд для культивирования изолированных клеток вносят только одиночные свободные клетки. Однако этот идеал достигается крайне редко, например в том случае, когда суспензию процеживают через стерильный муслин с такими мелкими порами, что группы клеток не проходят сквозь него. Так получают очень разбавленную суспензию свободных клеток (5 или менее клеток на 1 см^3 питательной среды). При подходящих условиях эти клетки в суспензии начинают размножаться и через 2—3 нед плотность клеток достигает примерно $100\,000$ на см^3 . При микроскопическом исследовании популяции клеток в это время можно увидеть, что теперь

уже не все клетки свободны, т. е. кроме одиночных клеток имеются клеточные скопления различных размеров и формы. Эксперименты показали, что образование таких скоплений в суспензионной культуре растительных клеток происходит путем многократного деления одной клетки без отделения дочерних клеток. Изолированные свободные клетки растений не агрегируют и не образуют скоплений подобно тому, как это делают некоторые культивируемые клетки животных. В большинстве исследований, проведенных на суспензионной культуре клеток, исходный инокулум состоял не только из свободных клеток, но и из небольших агрегатов, а кроме того, в нем присутствовали мертвые клетки и клеточный детрит.

6.6. ИЗУЧЕНИЕ РЕГЕНЕРАЦИИ В СТЕРИЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ

Растения обладают замечательной способностью к регенерации целого организма из изолированных кусочков побегов, корней, листьев или даже из такой относительно неорганизованной ткани, как каллус. Позже мы обсудим некоторые более общие аспекты регенерации, а сейчас рассмотрим опыты по регенерации, проведенные на каллусах и суспензионных культурах.

В культуре каллуса клеточное деление происходит беспорядочно во всех направлениях, и возникает неорганизованная масса ткани; следовательно, в каллусе нет вполне определенных осей полярности. В меристеме побега или корня, напротив, мы наблюдаем высокоорганизованное строение ткани, и характер деления строго упорядочен. Было обнаружено, что при некоторых условиях культивирования в каллусе образуются стеблевые или корневые меристемы и в результате регенерируют новые целые растения.

6.6.1. Регенерация корней и почек в культуре каллусов

Мы уже упоминали в гл. 3 (с. 100) о работах Скуга по взаимодействию ауксинов и цитокининов в их влиянии на рост культуры ткани из сердцевинки табака. Скуг обнаружил, что цитокинин и ауксин взаимодействуют при инициации клеточного деления, а также при образовании организованных меристем. Так, при изменении *соотношения* между ауксином и цитокинином изменяется тип образующейся меристемы. При сравнительно высоком отношении ауксина к цитокинину из части клеток каллуса возникают зачатки корней. При концентрации цитокинина, превышающей концентрацию ауксина, клетки дифференцируются в апикальные меристемы стебля. В результате последующего роста зачатков корней и стеблей каллус приобретает вид, представленный на рис. 6.2. Таким образом, небольшие изменения в соотношении ауксина и цитокинина могут 1) приводить к

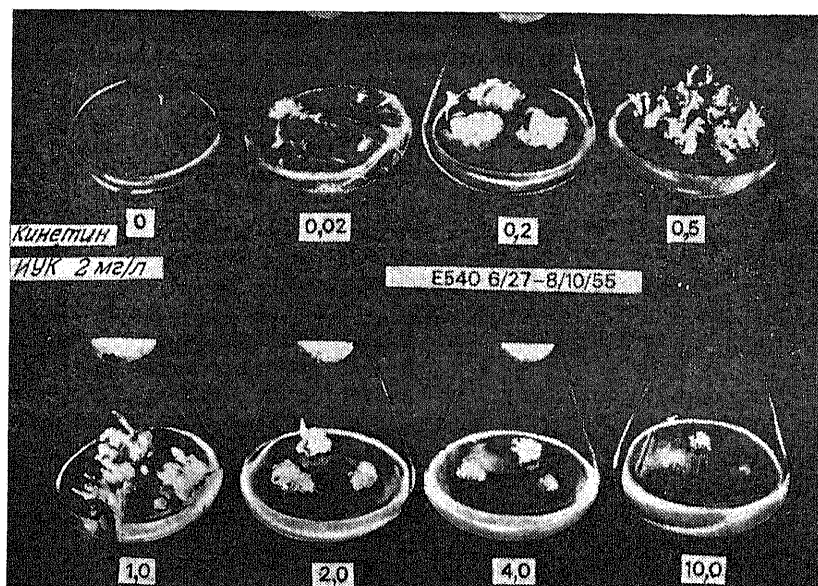


Рис. 6.2. Влияние различных концентраций кинетина (0—10 мг/л) на рост и органобразование в каллусе, полученном из клеток сердцевинки табака и выращиваемом на агаровой питательной среде, содержащей во всех сосудах по 2 мг/л 3-индолилуксусной кислоты. Возраст всех каллусов 44 сут. (Перепечатано из Symp. Soc. Exp. Biol., II, 1957. Фотография любезно предоставлена проф. F. Skoog.)

образованию меристем и 2) вызывать их дифференцировку в корневую или стеблевую апикальные меристемы.

Регуляция образования корней или стеблевых почек в культуре каллуса путем изменения соотношения ауксина и цитокинина была продемонстрирована на тканях различного происхождения, хотя известно и много неудачных попыток регенерировать почки или корни в культуре тканей, полученных из ряда видов растений. На взаимодействие гормонов при регуляции дифференцировки почек или корней могут влиять различные факторы, такие, как содержание сахаров и фосфатов, источник азота и другие компоненты среды, например пурины. Однако несомненно, что ауксин и цитокинин могут регулировать не только заложение центров организованной меристемы в каллусе, но также и тип образующейся меристемы. Тем не менее на инициацию верхушечных меристем в культуре каллуса влияют и другие стимулы. Например, инициация боковых корней в сегментах стебля гороха подавляется красным светом. Следовательно, при образовании верхушечных меристем корней может действовать механизм с участием фитохрома (гл. 8).

6.6.2. Образование зародышей в стерильной культуре растительных клеток и тканей

Тотипотентность растительных клеток наиболее наглядно была продемонстрирована при регенерации целых растений из зародышей, образовавшихся в культурах как соматических, так и мужских генеративных клеток (т. е. пыльцевых зерен). Впервые образование в культуре растительных тканей зародышей, имевших по крайней мере внешне нормальный вид и поведение, наблюдали Стюард в 1958 г. и Райнерт в 1959 г., которые, последовательно изменяя состав питательной среды, добились того, что на каллусе из флоэмной паренхимы корня моркови появлялись зародыши, очень напоминавшие нормальные зародыши. При переносе на подходящую среду из них вырастали целые растения моркови. Зародыши, образованные не из оплодотворенных яйцеклеток, а каким-то другим путем, часто называют *адвентивными зародышами* или *эмбриоидами*. Изменения в питательной среде, необходимые для образования эмбриондов, в общем сводятся к изменениям в соотношении ауксина и цитокинина.

После этого первого сообщения многие исследователи получали адвентивные зародыши в культуре каллусов, в суспензионной культуре и в культуре изолированных пыльников и пыльцевых зерен (рис. 6.3). Процесс регенерации, особенно в связи с эмбриогенезом в стерильной культуре, был тщательно изучен у дикого вида и культурных сортов моркови (*Daucus carota*) (рис. 6.5), но было также обнаружено, что способность к образованию адвентивных зародышей широко распространена в растительном мире. Тем не менее нельзя сказать, что все клетки растения или клетки всех видов сохраняют тотипотентность, так как было и много безуспешных попыток вызвать эмбриогенез и/или органогенез в стерильной культуре тканей многих видов. Возможно, что эмбриогенез происходит только у диплоидных клеток (или гаплоидных в случае пыльцевых зерен), и неудача в образовании адвентивных зародышей может быть связана с полиплоидией культивируемых клеток и тканей.

Для образования адвентивных зародышей характерны появление упорядоченной группы клеток с продольной полярностью и очень ранняя дифференцировка стеблевого и корневого полюсов на ее противоположных концах. Адвентивные зародыши формируются вне всякой связи с проводящей системой материнского растения или каллуса, что отличает их от структур с одним полюсом, таких, как почки или корни, которые всегда связаны с проводящей тканью.

Путем подбора соответствующих экспериментальных условий можно индуцировать постоянное образование адвентивных зародышей, и тогда в культуре одновременно обнаруживаются

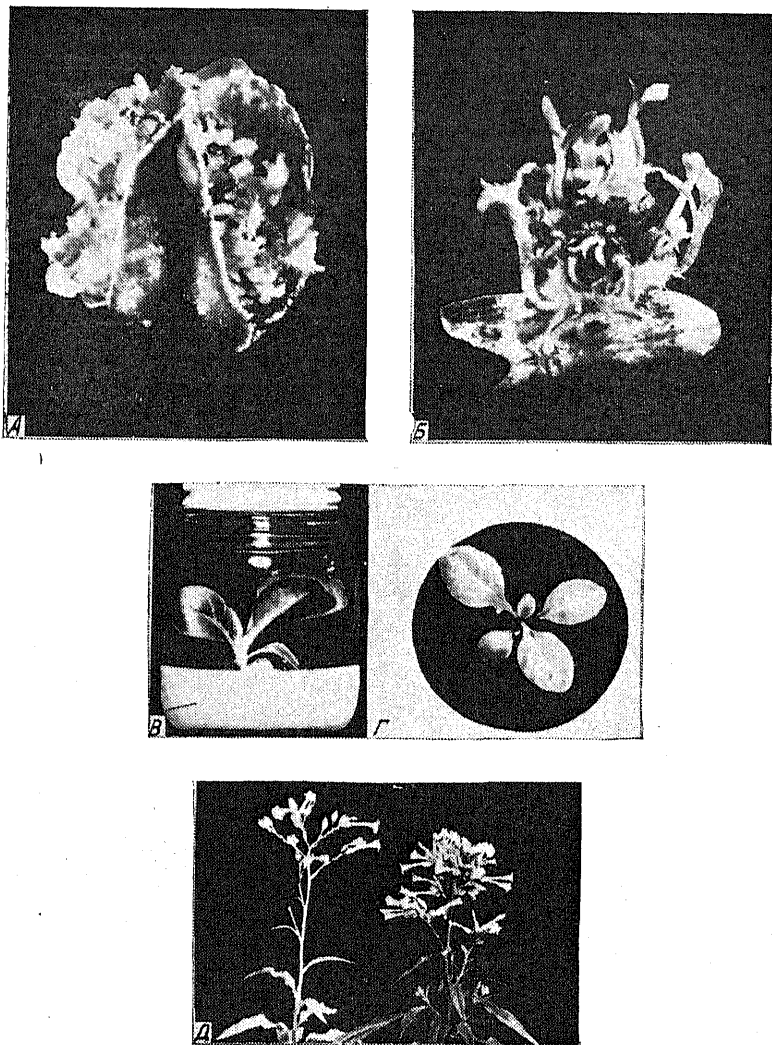


Рис. 6.3. Развитие эмбриоидов (адвентивных зародышей) из пыльцевых зерен при культивировании пыльников *Nicotiana tabacum* сорта White Burley. (N. Sunderland, Pollen and Anther Culture, ch. 9 in: Plant Tissue and Cell Culture, ed. H. E. Street, Blackwell Scientific, 1973. Фотографии предоставлены д-ром N. Sunderland.)

А. Пыльник, культивируемый в течение 28 сут при 25 °С и при непрерывном освещении. Видно большое число образующихся эмбриоидов, каждый из которых развивается из одного пыльцевого зерна. Б. Тот же пыльник через 7 сут. На этой стадии развития растеньица можно легко разъединить каждое из них высадить отдельно, как показано на В. Позже их можно пересадить на смесь торфа и песка в обыкновенный горшок (Г). Д. Соцветия нормального диплоидного растения табака (слева) и гаплоидного растения (справа), выращенного из пыльцевого зерна так, как показано на А—Г. Интересно, что на гаплоидном растении обычно развивается более крупное соцветие, чем на диплоидном.

зародыши на всех стадиях развития. Адвентивные зародыши в культуре тканей, очевидно, образуются из одиночных клеток, обычно расположенных на поверхности каллуса. Окружающие клетки каллуса могут служить для зародыша «тканью-нянкой» на ранних стадиях его развития. Имеются данные, что образование адвентивных зародышей в суспензионной культуре растительных клеток также происходит при участии ткани-нянки, т. е. сначала путем повторных делений из исходной одиночной клетки образуется многоклеточный агрегат, а затем из одной клетки на поверхности агрегата может образоваться зародыш. Вместе с тем Стюард и его сотрудники утверждали, что из одиночных изолированных клеток путем сегментации можно прямо, без образования каллуса, получить проэмбрионы, которые затем вырастают в зародыши и нормальные растения. По мнению Стюарда, одним из условий образования адвентивных зародышей в суспензионной культуре является отсутствие связи с соседними клетками, что позволяет данной клетке расти независимо. Правда, различные исследования последних лет показали, что адвентивные зародыши могут возникать из отдельных клеток на поверхности каллуса. Дальнейшие микроскопические исследования адвентивных зародышей несомненно ответят на вопрос, может ли зародыш развиваться прямо из одиночной растительной клетки, не контактирующей с другими клетками. Однако по данным электронно-микроскопических исследований последнего времени, эмбриогенные клетки в каллусе из *Ranunculus scleratus* в процессе эмбриогенеза связаны протоплазматическими тяжами с соседними клетками. Это свидетельствует о том, что физиологическая изоляция от соседних клеток не обязательна для развития адвентивного зародыша и является еще одним доводом в пользу существования клеточек-нянек, которые для чего-то необходимы на ранних стадиях эмбриогенеза. Точно так же в пользу концепции клеточек-нянек говорят сообщения о том, что адвентивные зародыши образуются в суспензионной культуре из одной клетки клеточного агрегата, а остальные клетки агрегата каким-то образом способствуют начальному развитию эмбриоида. Тем не менее верно, что эмбриогенной становится только клетка суспензионной культуры или клетка на поверхности каллуса, хотя эти клетки могут нуждаться в помощи «нянек», а остальные клетки каллуса не образуют эмбриоидов, но становятся способными к эмбриогенезу при их разделении в суспензионной культуре.

Раньше для получения адвентивных зародышей в стерильной культуре часто использовали среду, содержащую жидкий эндосперм кокосового ореха. Одно время считалось, что кокосовое молоко содержит особые вещества, необходимые для образования зародышей в суспензионной культуре. Однако более новые исследования показали, что клетки в суспензионной культуре

могут образовывать зародыши и на синтетической среде с химически вполне определенным составом, без добавления кокосового молока. Для экспериментальной индукции образования адвентивных зародышей необходимо последовательно менять питательную среду, причем особенно важно контролировать соотношение азота и ауксина. Поэтому ряд исследователей используют такую последовательность смены сред, кульминационным моментом которой является перенос со среды без ауксина на среду с ауксином. Этого может оказаться вполне достаточным для начала эмбриогенеза в культуре.

6.6.3. Культура пыльцы и пыльников

В последние несколько лет методику, разработанную ранее для выращивания адвентивных зародышей из соматических клеток, начали использовать для получения зародышей и даже целых растений из пыльцевых зерен. Пыльцевые зерна образуются в природе в сравнительно больших количествах, и они легкодоступны для экспериментаторов. Каждое зерно состоит всего из нескольких клеток (пяти у голосеменных и трех у покрытосеменных) и обладает уникальным геномом, возникающим при мейозе в процессе микроспорогенеза. У диплоидных растений каждый ген в пыльцевых зернах представлен только одной копией, и поэтому при образовании адвентивного зародыша из пыльцевого зерна возникает гаплоидное растение, каждый ген которого экспрессирован в фенотипе. Это очень важно в практике селекции растений, так как экспериментально полученные мутанты могут быть оценены на гаплоидах и быстрее и проще. Кроме того, незащищенные адвентивные зародыши в культуре пыльцы или пыльников, а также возникающие из них растеньица представляют собой удобный и однородный материал для мутагенных обработок, таких, как облучение рентгеновскими лучами.

Методика индукции эмбриогенеза в культуре пыльцы и пыльников все еще находится в процессе разработки, и в настоящее время успех в этом отношении достигнут только с ограниченным числом видов растений. Первые опыты по культивированию пыльцы были предприняты в 50-х годах, когда Тулеке получил каллусы из пыльцы некоторых голосеменных. Лишь в середине 60-х годов Гуа и Махешвари удалось достигнуть успеха в культивировании пыльцы покрытосеменных, и то только целых пыльников *Datura innoxia*. Однако уже в 1967 г. Гуа и Махешвари обнаружили, что развитие культивируемых пыльников *D. innoxia* приводит к образованию гаплоидных растений, причем каждое растение возникает из одного пыльцевого зерна. С тех пор были разработаны условия, при которых происходит рост в стерильной культуре и эмбриогенез пыльцы (иногда

внутри изолированных пыльников) различных других покрытосеменных (рис. 6.3).

При культивировании пыльников их обычно изолируют в стерильных условиях и либо переносят на поверхность стерилизованной агаровой среды, либо помещают плавать на поверхность жидкой среды, либо располагают на полосках фильтровальной бумаги, концы которых опущены в жидкую среду. При этом важно выбрать пыльники с пылью на определенной стадии микроспорогенеза. Так, в культуре пыльников *Nicotiana tabacum* больше всего адвентивных зародышей получается, если изолированные пыльники содержат пыльцу на стадии, когда в цитоплазме вегетативной клетки идут активные синтетические процессы. Результаты, полученные на других видах, показали, что критическая стадия может различаться в зависимости от вида или разновидности растения. Кроме того, немаловажное значение имеют условия в стерильной культуре и условия, при которых выращивали растение-донор. Для культуры пыльцы и пыльников используют такую же среду, как для культуры соматических клеток, и при этом наиболее важную роль играют вводимые в среду гормоны. В среду для пыльников большинства видов вносят как ауксин, так и цитокинин, хотя иногда бывает достаточно присутствия только одного из гормонов. Цитокинин при желании можно заменить кокосовым молоком.

Эмбриогенез в культуре пыльников покрытосеменных происходит путем развития вегетативной клетки каждого пыльцевого зерна. Начальные стадии образования адвентивного зародыша различаются у разных видов. Иногда вегетативная клетка повторно делится, а развитие пыльцевой трубки полностью подавляется. Можно видеть, как постепенно производные вегетативной клетки организуются в зародыш, из которого затем вырастает растение. В других случаях эмбриогенез происходит, когда вместо нормального неэквивалентного деления, приводящего к образованию вегетативной и генеративной клеток, происходит эквивалентное деление.

Пыльца некоторых видов при определенных условиях культивирования пыльников может делиться так, что образуется каллус. На таком каллусе часто формируются стеблевые почки и корни, а затем таким образом можно получить целое растение. И хотя многое предстоит еще выяснить, уже очевидно, что метод культуры пыльцы и пыльников в будущем сыграет важную роль при выведении новых культурных и декоративных растений.

6.6.4. Выделение и культура растительных протопластов

В середине 50-х годов были разработаны методы, позволяющие выделять протопласты из соматических и репродуктивных клеток. Протопласт — это растительная клетка, у которой уда-

лена клеточная стенка, и поэтому в стерильной культуре выделенные протопласты ведут себя во многих отношениях подобно животным клеткам в культуре. При подходящих условиях культивирования они растут и делятся и могут даже образовать клеточные стенки.

Протопласты растительных клеток можно выделить из исходной ткани механически или с помощью ферментов. При механическом выделении протопластов клетки сначала подвергают плазмолизу в гипертоническом растворе, а затем осторожно, с помощью микрохирургических методов, удаляют клеточные стенки. Такую методику нельзя применить к невакуолизированным, например меристематическим, клеткам. По этой и другим причинам многие исследователи получают протопласты, обрабатывая клетки ферментами, разрушающими компоненты растительных клеточных стенок. Чаще всего клетки последовательно или одновременно обрабатывают пектиназой (для мацерации клеток) и целлюлазой (для разрушения клеточных стенок). После выделения растительные протопласты нужно держать в жидкой культуральной среде с осмотическим потенциалом, очень близким к потенциалу протопластов; иначе за счет чрезмерного набухания или сморщивания в протопластах произойдут необратимые повреждения.

Потенциальные возможности использования стерильной культуры выделенных протопластов в исследовательской работе очень велики. Например, проникновение вирусов в растительную клетку или поглощение клетками макромолекул гораздо проще изучать в отсутствие клеточной стенки. Однако наиболее перспективным является успешное слияние протопластов различного происхождения с образованием новых видов растений путем соматической гибридизации. Выведение новых растений всегда было ограничено необходимостью эффективного полового оплодотворения. Невозможность получения жизнеспособных межвидовых и межродовых гибридов может быть обусловлена рядом нарушений нормального полового процесса: в частности, неспособностью пыльцевой трубки проникнуть в зародышевый мешок, разрушением эндосперма и т. п. Этих сложностей можно избежать, если вместо полового размножения использовать прямое слияние вегетативных клеток. Уже было произведено успешное слияние выделенных растительных протопластов (рис. 6.4) и разработаны соответствующие методы, позволившие из нескольких слившихся протопластов получать целое новое растение либо путем образования адвентивных зародышей, либо путем образования стеблевых почек и корней на возникшем из протопластов каллусе.

Кроме преодоления природного механизма несовместимости при генетической гибридизации практическое значение, хотя пока не оцененное, также может иметь смешивание цитоплазмы и

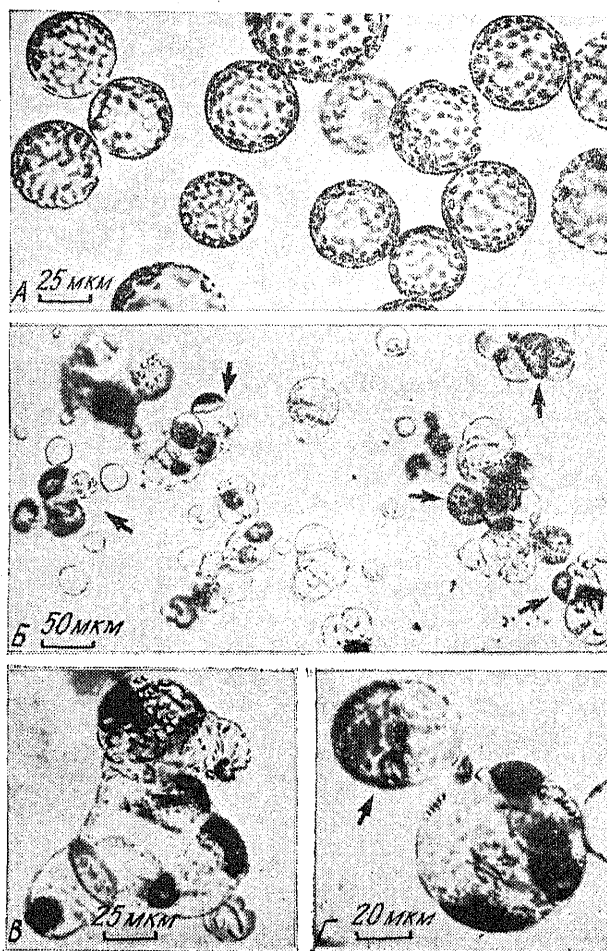


Рис. 6.4. Изолированные протопласты растительных клеток и слияние протопластов различных видов. (Фотографии любезно предоставлены проф. Е. С. Cocking.)

А. Протопласты, выделенные из мезофилла листьев *Petunia hybrida* с помощью ферментативного разрушения клеточных стенок. Б. Протопласты, выделенные из мезофилла листьев *Petunia hybrida* и из обесцвеченного эпидермиса *Nicotiana tabacum* и обработанные полиэтиленгликолем для индукции их слияния и слияния. Видно несколько слившихся протопластов от двух видов растений (стрелки). В. Крупный агрегат, содержащий слившиеся протопласты *Petunia hybrida* и *Nicotiana tabacum* (протопласты из обесцвеченного эпидермиса). Г. Межвидовой гетерокарин, возникший в результате слияния нескольких протопластов от *Petunia hybrida* и *Nicotiana tabacum*. Гетерокарин приобрел шаровидную форму, и в нем начинается активное перемешивание цитоплазмы. Видны также два прилипших друг к другу протопласта, принадлежащие двум разным видам (стрелка).

органелл различных видов растений. Например, одно из направлений будущей работы может заключаться в слиянии протопластов, полученных от представителей различных подразделений растительного царства. Таким путем можно, например, получить злаки, которые обладают способностью синезеленых водорослей использовать атмосферный азот, а не зависят от азотных удобрений, внесенных в почву. Уже удалось слить протопласты растительных и животных клеток, и не исключено, что такой процесс может привести к созданию гибридов между растениями и животными.

6.7. РЕГЕНЕРАЦИЯ У СТЕБЛЕВЫХ И КОРНЕВЫХ ЧЕРЕНКОВ

Одним из наиболее ярких примеров регенерации, хотя обычно осуществляемой не в стерильной культуре, является широко применяемое в садоводстве вегетативное размножение растений стеблевыми или корневыми черенками, на которых развиваются придаточные корни и/или почки. У стеблевых черенков в результате деления клеток камбия в их основании часто образуется каллус, и в таком каллусе закладываются корни. Однако адвентивные корни могут образовываться и в нормальных тканях стебля — обычно в перидерме, но у некоторых видов в камбиальной зоне. У корневых черенков как корни, так и почки обычно возникают из каллуса, образующегося из паренхимы в более молодой флоэме.

Легкость образования корней на побегах очень широко варьирует; например, черенки фасоли достаточно просто опустить нижними концами в воду, и на них образуются корни, черенки же других видов редко укореняются, даже если находятся в очевидно наиболее благоприятных условиях. Для тех растений, у которых корни образуются легко, в общем справедливо, что на отрезке стебля с почкой или листьями корни формируются на морфологически нижнем конце, тогда как на отрезках стебля с удаленными почками и листьями корни не возникают или это происходит с трудом. Следовательно, можно предположить, что в почках и листьях образуется какое-то вещество, которое движется вниз по стеблю и способствует корнеобразованию в его основании. В пользу образования такого вещества говорят опыты, в которых экстракты из молодых листьев стимулировали укоренение стеблевых черенков. Далее было обнаружено, что обработка черенков ауксином оказывает такое же влияние, как экстракты молодых листьев (рис. 5.34), поэтому, вероятнее всего, стимулирующее влияние почек и листьев на укоренение связано с образованием ауксина в этих органах. Влияние ауксина на укоренение черенков сводится к тому, что он увеличивает скорость образования и общее число закладок

адвентивных корней. Это, следовательно, еще один пример активации ауксином клеточного деления и дифференцировки.

Корни обычно формируются на *базальном конце* стеблевого черенка, даже если перевернуть черенок морфологически нижним концом вверх (с. 33). Таким образом, стебли при закладке корней проявляют полярность. Известно, что ауксины стимулируют образование корневых инициалей, а также что они передвигаются базипетально (с. 164). Это наводит на мысль, что полярность в образовании корней является следствием передвижения ауксина к тканям морфологически нижнего конца, где гормон приводит в действие процесс корнеобразования. Действительно, если ауксин вводить через апикальный конец стеблевого черенка, то каллус, а затем и корни образуются на его нижнем конце, а если провести обработку базального конца, то корни опять-таки образуются в основании черенка.

Если конец отрезка стебля погрузить в раствор цитокинина, то на его морфологически верхнем конце могут образоваться многочисленные почки, но корни либо вообще не развиваются, либо развиваются очень слабо, т. е. действие цитокинина противоположно действию ауксина. Тем не менее, как мы уже видели (с. 240), ауксин может и не вызвать образования корней, если концентрация цитокининов в обрабатываемых тканях недостаточно высока, поскольку для образования корней необходимо активное клеточное деление. Корневые черенки ведут себя так же, как стеблевые, в отношении полярности заложения корней и стеблевых почек и влияний на них ауксинов и цитокининов (с. 240). Образование почек и корней на противоположных концах изолированных отрезков стебля или корня, по-видимому, связано с передвижением ауксина и цитокинина в противоположных направлениях. Когда какой-то из гормонов накапливается преимущественно на одном из концов, то соответственно возникают почки или корни. Действительно, было обнаружено, что при помещении корневых черенков цикория (*Cichorium intybus*) в условия повышенной влажности, благоприятной для регенерации, происходят определенные изменения в распределении эндогенных гормонов внутри черенков, так что концентрация ауксина повышается на базальных концах, а концентрация цитокинина — на апикальных концах. Эти изменения происходят *ранее* какой-либо видимой регенерации почек и корней и, следовательно, могут играть важную роль в определении типа регенерации. Приведенные наблюдения, безусловно, полностью соответствуют данным, согласно которым регенерация почек и корней в культуре каллуса связана с высокой концентрацией соответственно цитокинина или ауксина (с. 240).

В настоящее время мы мало знаем о характере передвижения цитокининов в растениях. Сам кинетин, очевидно, передвигается нелегко, так как он остается в месте его нанесения или

очень близко от него. Однако природные цитокинины могут вести себя иначе, так как имеются данные, что синтезированные в корнях цитокинины передвигаются в побег (с. 172). Кроме того, известно, что некоторые синтетические цитокинины очень легко перемещаются в тканях растения.

Ауксины не являются единственным фактором, обуславливающим образование корней. Необходимо также снабжение сахарами и другими питательными веществами. Стимулирующее влияние листьев на укоренение стеблевых черенков может быть отчасти связано с образованием в них питательных веществ или также с синтезом каких-то специфических стимулирующих возникновение корней гормональных веществ, действующих совместно с ауксином.

В отличие от стеблевых черенков, у которых очень легко регенерируют корни, изолированные корни большинства видов, растущие в стерильной культуре, обычно образуют только ткани корня, в частности формируют боковые корни, но стеблевые почки на них закладываются сравнительно редко. Ауксин каким-то образом участвует в регуляции образования боковых и адвентивных корней. Погружение главного корня проростка двудольного растения в раствор ауксина приводит к подавлению его роста и к стимуляции образования боковых корней. Если эти новообразованные корни снова погрузить в раствор ауксина, то их рост также будет подавлен. Таким образом, ауксины, за исключением их очень низких концентраций, стимулируют образование корней, но подавляют их последующее растяжение. В результате погруженные в раствор ауксина корни становятся коротенькими и покрываются рядами многочисленных, но также плохо растущих боковых корешков.

6.8. ОБЩИЕ АСПЕКТЫ РЕГЕНЕРАЦИИ

Синнот определил регенерацию как «тенденцию развивающегося организма к восстановлению частей, которые были удалены или физиологически изолированы, благодаря чему снова образуется целое растение». Это широкое определение охватывает многочисленные явления, но все они имеют и что-то общее. Во-первых, как мы уже видели, термин регенерация применяют к образованию стеблевых и корневых меристем в неорганизованной массе каллуса, который может расти в стерильной культуре или возникать на раневой поверхности. Это замечательное явление, даже если оно столь знакомо, что мы склонны принимать его как само собой разумеющееся. Мы не имеем ясного представления о природе факторов, благодаря действию которых в массе неорганизованного каллуса возникает высокая степень организации, но мы уже предположили (с. 59), что верхушечная меристема побега или корня представляет собой ту

стабильную конфигурацию, которая «выкристаллизовывается» при определенных условиях.

Важно отдавать себе отчет в том, что во время регенерации мы наблюдаем процессы, характерные для нормального развития. Когда нормальный ход развития нарушается поранением или каким-либо другим образом, происходят события, направленные на компенсацию повреждения и восстановление нормы. Таким образом, можно себе представить, что нормальное растение находится в состоянии равновесия, а при нарушении этого равновесия включаются регуляторные механизмы, восстанавливающие его. Способность к регенерации корневой и стеблевой меристем хорошо иллюстрирует это явление. Мы уже видели, что если расщечь апекс побега *Lupinus* двумя вертикальными разрезами под прямым углом друг к другу, то каждый из сегментов исходного апекса способен регенерировать в нормальный апекс (с. 59). Подобные опыты были успешно проведены и на апексах корней. Другим примером может служить регенерация проводящей ткани (с. 186) и образование феллогена при повреждении или порезе поверхности стебля.

До сих пор мы обсуждали проблемы, связанные со спонтанным развитием организованных меристем в неорганизованной меристематической ткани. Следующая проблема касается возобновления клеточного деления в уже дифференцированных, неделящихся клетках после поранения. В некоторых случаях регенерация примордиев корней происходит в каллусе, развивающемся на базальной поверхности среза стеблевого черенка, тогда как в других случаях корневые примордии могут образоваться путем возобновления клеточного деления в тканях стебля, таких, как перицикл. Однако во всех случаях очевидно, что изоляция кусочка стебля или другого органа приводит к возобновлению клеточного деления. Остается только непонятным, что вызывает это клеточное деление. Имеются данные, что при поранении растительных тканей высвобождаются «раневые гормоны», которые стимулируют клеточное деление, но неясно, всегда ли такие вещества участвуют в регуляции клеточного деления после поранения. Во всяком случае известно, что некоторые дифференцированные клетки стебля или корня становятся дедифференцированными, когда они восстанавливают меристематическую активность.

Явление регенерации служит веским доводом в пользу того, что дифференцировка у многих типов растительных клеток не означает утрату их генетических потенций, т. е. они остаются тотипотентными.

Хотя тотипотентность индивидуальных клеток ряда видов растений была продемонстрирована экспериментально (рис. 6.5), все же из осторожности пока не следует утверждать, что все живые, содержащие ядра растительные клетки тотипотент-

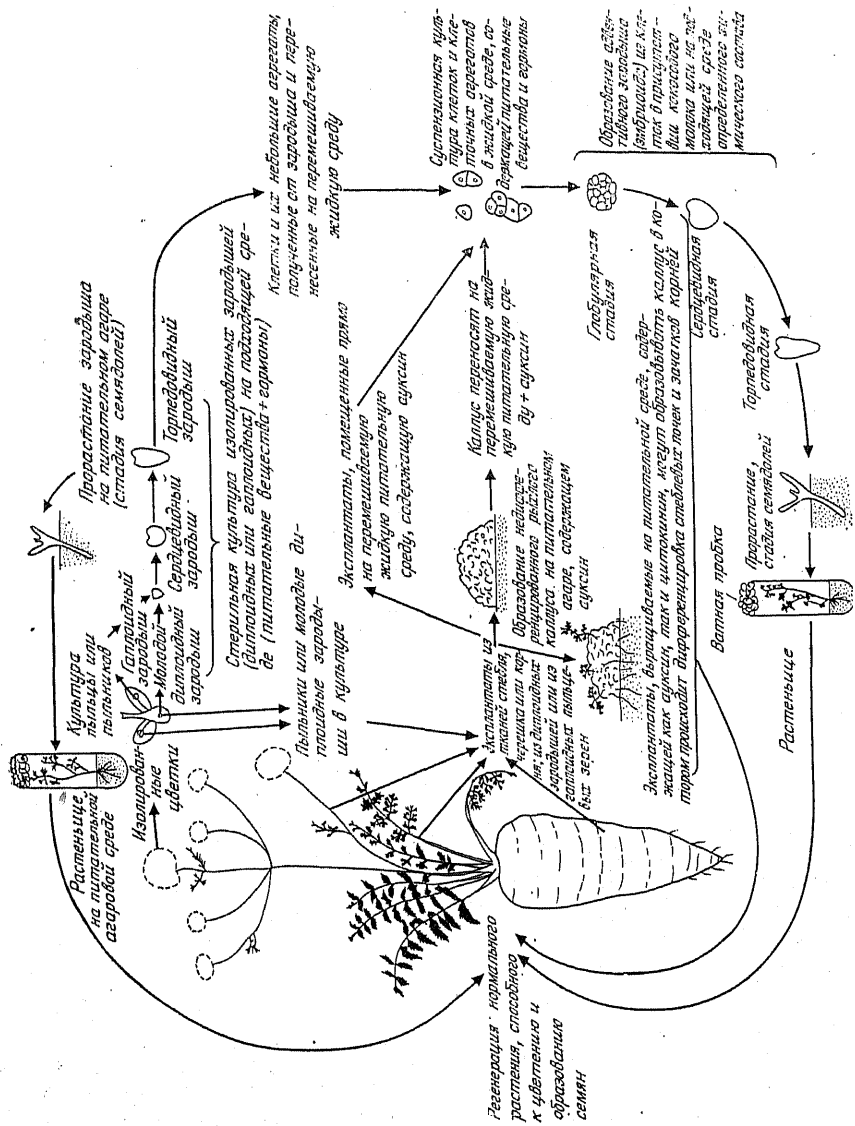


Рис. 6.5. Схема, иллюстрирующая возможные пути регенерации тканей эксплантатов из различных частей растения моркови в новое целое растение. Цикл регенерации может повторяться неограниченно долго. (Упрощено и дополнено из Steward et al., Brookhaven Symp. Biol., 16, 73, 1963.)

ны. Это положение нельзя считать доказанным до тех пор, пока мы не сможем вызвать регенерацию целого растения из изолированных клеток всех известных для растений типов тканей (т. е. клеток паренхимы, палисадного и губчатого мезофилла, сопровождающих клеток). Но даже если нам и удастся добиться этого, не надо забывать, что растения регенерируют из адвентивных зародышей, образующихся из клеток корня, гипокотыля, стебля, черешка, зародыша и даже пыльцы (с. 240). Клетки зеленых листовых пластинок оказались более трудным объектом для демонстрации их предполагаемой тотипотентности. Несмотря на это, ряд исследователей в области культуры клеток и тканей, в частности Стюард, считают, что любая свободная клетка высшего растения, помещенная в подходящую среду (питание и гормоны), может регенерировать целое новое растение по одному из альтернативных путей, ведущих к рассмотренной выше организации.

Очевидно, что возможности развития большинства клеток каллуса каким-то образом ограничены и дальнейшие ограничения накладываются при дифференцировке проводящей ткани, стеблевых почек и зачатков корней. Так, деление клеток недифференцированного каллуса ничем не ограничено, но когда образуется почка, ее клетки, становясь частью листового примордия, могут делиться только в определенных плоскостях, и до тех пор, пока они остаются частью листа, они не способны к неограниченному делению. Мы не знаем, каков механизм этого ограничения у клеток, входящих в состав ткани, но возможно, что регуляция поведения каждой клетки осуществляется соседними клетками через систему плазмодесм, соединяющих протопласты соседних клеток.

Открытие того факта, что соответствующие концентрации ауксина и цитокинина в культуральной среде регулируют регенерацию почек и корней в тканях каллуса, позволило предположить, что эти гормоны играют важную роль в «органообразовании». Однако следует отметить, что гормоны первично влияют на инициацию апикальных меристем побега и корня, и мы не знаем случаев, чтобы в культуре каллуса сразу образовывались бы органы с детерминированным ростом, такие, как стебли или листья, хотя они могут образовываться в результате последующего роста меристем. Если мы не будем называть стеблевую меристему «органом», что кажется малопримемлемым, то не слишком точно говорить, что цитокинины вызывают органообразование, хотя, может быть, более верно сказать это в отношении инициации корневых примордиев ауксином.

Тем не менее очень интересно, что в ответ на разные концентрации гормонов развиваются два типа апикальной меристемы. Возникает вопрос, могут ли различия в содержании эндогенных ауксинов и цитокининов в разных частях растения иг-

рять роль в нормальной регуляции направления развития? Наблюдавшееся увеличение в содержании эндогенных цитокининов в апикальных концах и ауксинов в базальных концах корневых черенков цикория (с. 250), а также тот факт, что эти изменения предшествовали образованию адвентивных почек и корней, позволяют предположить, что указанные гормоны важны и при естественной регенерации. Мы вернемся к обсуждению возможной роли фитогормонов в морфогенезе в гл. 13.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Butcher D. N., Ingram D. S., 1976. Plant Tissue Culture, Edward Arnold, London.
- Laetsch W. M., Cleland R. (eds.), 1967. Papers on Plant Growth and Development, Little, Brown and Co., Boston.
- Steward F. C., 1968. Growth and Organization in Plants, Addison-Wesley, Reading, Mass.
- Steward F. C. (1963). The control of growth in plant cells, Sci. Amer., 209, 104.
- Sunderland N. (1970). Pollen plants and their significance, New Scientist, 47, 142—144.

Специальная литература

- Cocking E. C. (1972). Plant cell protoplasts— isolation and development, Ann. Rev. Plant Physiol., 23, 29—50.
- Cocking E. C., 1977. Growth substances and protoplasts. In: Proc. 9th Int. Conf. Plant Growth Regulating Substances, Plant Growth Regulation (ed. P. E. Pilet), pp. 281—285, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg.
- Gresshoff P. M. 1978. Phytohormones and growth and differentiation of cells and tissues cultured *in vitro*. In: Phytohormones and Related Compounds— A Comprehensive Treatise, vol. II (eds. D. S. Letham, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins), pp. 1—29, Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- Murashige T. (1974). Plant propagation through tissue cultures, Ann. Rev. Plant Physiol., 25, 135—168.
- Skoog F., Miller W. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*, Symp. Soc. Exp. Biol., 11, 118.
- Steward F. C., Ram H. Y. (1961). Determining factors in cell growth, Adv. in Morphogenesis, 1, 189.
- Steward F. C., Kent A. E., Mapes M. O., 1966. The culture of free plant cells and its significance for embryology and morphogenesis. In: Current Topics in Developmental Biology (eds. A. Monroy and A. A. Moscona), vol. 1, Academic Press, New York.
- Sunderland N., 1974. Anther culture as a means of haploid induction. In: K. J. Kasha (ed.), Haploids in Higher Plants, Advances and Potential, University of Guelph Press, pp. 91—121.
- Torrey J. G. (1966). The initiation of organized development in plants, Adv. in Morphogenesis, 5, 39, Various articles by: Street H. E., Cocking E. C., Evans P. K., Yeoman M. M.; Street H. E., Sunderland N., Yeoman M. M.; Aitchison P. A., King P. J.; Street H. E., Reinert J., Butcher D. N., Ingram D. S., 1973. In: H. E. Street (ed.), Plant Tissue and Cell Culture, Botanical Monographs, vol. 11, Blackwell Scientific, Oxford.

РАЗДЕЛ III

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА РАЗВИТИЕ

Введение

В предыдущих разделах этой книги рассмотрены главным образом внутренние процессы, составляющие и регулирующие рост и дифференцировку у растений. Однако наземные растения подвержены влиянию самых разнообразных внешних факторов, таких, как свет, температура, водный стресс, гравитация и т. д., которые в той или иной степени отражаются на их росте и развитии. Некоторые из них могут оказывать вредное влияние, представляющее опасность для растения; как, например, отрицательные температуры или засуха. Животные также вынуждены существовать в этих условиях, но они способны избегать стрессов, мигрируя в области с более подходящими условиями или впадая в зимнюю спячку. Будучи неподвижными, наземные растения имеют значительно меньшие возможности для избежания действия стрессов, и, следовательно, чтобы выжить, они должны быть *устойчивыми* к неблагоприятным факторам внешней среды.

Однако помимо непосредственных стрессовых воздействий на ткани растения изменения некоторых факторов оказываются полезными для растений, так как снабжают их информацией о внешней среде и облегчают тем самым адаптацию к местным условиям. Так, гравитация никогда не вызывает стрессов, но способность растения воспринимать направление гравитации обеспечивает его информацией, при помощи которой оно ориентируется относительно поверхности почвы. В таких случаях внешний фактор действует как *сигнал*, или *стимул*, вызывая «запрограммированную» реакцию, дающую возможность лучше приспособиться к внешним условиям. Таким образом, необходимо различать 1) непосредственное действие факторов внешней среды, которое является неадаптивным (например, повреждение холодом), и 2) адаптивные запрограммированные реакции, в которых внешний фактор действует как сигнал, или стимул (например, ростовые движения, фотопериодизм, фотоморфогенез и покой).

Адаптивные реакции на внешние условия многочисленны и разнообразны, и в оставшихся главах книги мы рассмотрим некоторые из них. В первой главе этого раздела мы ограничимся рассмотрением в основном ростовых изгибов, в частности изгибов, представляющих собой ответную реакцию на направленные стимулы, такие как гравитация и неравномерное освещение.

Глава 7

Ростовые движения

7.1. ХАРАКТЕРИСТИКА РОСТОВЫХ ДВИЖЕНИЙ

Характерным свойством живых организмов является способность воспринимать и реагировать на изменение условий окружающей среды. Внешний фактор представляет собой *стимул*, а возникающее в результате его действия изменение в растении называется *ответной реакцией*. У растений наблюдается множество реакций на условия окружающей среды, но определенные внешние стимулы вызывают движения различного типа.

Все растения обладают способностью к движениям. У низших растений, таких, как многие водоросли, грибы и бактерии, весь организм способен передвигаться. У высших растений способность к движению ограничивается отдельными органами или частями организма. Процесс удлинения органа тоже может рассматриваться как своего рода движение; например, кончик корня в результате роста движется в почве. Другие типы движений обусловлены *дифференциальным* ростом; так, орган, у которого скорости роста противоположных сторон различны, подвергается изгибу. Движения подобного типа называют *ростовыми движениями*. Не все движения растений являются ростовыми. Некоторые вызываются обратимыми изменениями тургора в тканях основания листа, где имеется специальная структура, листовая подушечка, в которой происходит изгиб. (Листовая подушечка представляет собой вздутое основание листа или листочка, состоящее в основном из тонкостенной паренхимы.)

Ответные реакции, такие, как ростовые движения, на действие внешнего стимула являются единственным свидетельством того, что растение восприняло раздражение. Можно предположить, что стимул действует на какой-то *рецептор*, или *сенсор*, находящийся в растении, и вызывает в нем серию процессов, приводящих в конечном итоге к наблюдаемой реакции. Последовательность процессов может быть схематически представлена следующим образом:

Стимул → Восприятие → Передача → Реакция.

Восприятие включает, как уже отмечалось, изменение чувствительности рецептора к определенному внешнему стимулу. *Передача* в приведенной выше схеме — термин, включающий все

события, связывающие восприятие раздражения с наблюдаемой реакцией. Следовательно, передача включает: а) регуляцию специфических биохимических и/или биофизических процессов в клетке (клетках) рецептора, приведенных в активное состояние сенсором, б) передачу сигнала от места восприятия в пространственно отделенную зону реакции (передача может включать движение сигнала от клеток, имеющих рецепторные участки, к клеткам, проявляющим реакцию, или же передача сигнала может быть чисто внутриклеточной, т. е. одна и та же клетка может и воспринимать, и реагировать на раздражитель) и в) взаимодействие доза—эффект.

Мы уже говорили (гл. 3) о таком ростовом движении, как фототропизм, когда движение органа происходит в ответ на одностороннее освещение. Следовательно, тропизм такого типа является реакцией на внешний раздражитель. В случае фототропизма раздражителем является свет, однако и другие внешние раздражители, например гравитация, вода, химические вещества, нагревание или механический контакт, также могут вызывать ростовые движения.

Если направление ответной реакции связано с направлением действия раздражителя, то мы говорим о *тропизме*, однако во многих случаях направление движения не имеет прямой связи с направлением действия раздражителя, и в этом случае мы говорим о *настической реакции*, или *настии*. Следовательно, изгиб побега в сторону большей освещенности является фототропической реакцией, тогда как открывание и закрывание цветков при изменении интенсивности света — фотонастической. Все тропизмы индуцируются направленными, или односторонними, раздражителями, раздражитель же настической реакции может быть диффузным. Другим примером настической ростовой реакции служит открывание и закрывание цветков у таких растений, как крокус, в ответ на изменение температуры (термонастия). При повышении температуры происходит ускорение роста внутренней стороны лепестков и цветок раскрывается, а при понижении — ускоренный рост наблюдается на внешней стороне. Не все настические движения представляют собой ростовые движения; некоторые из них вызываются обратимыми изменениями тургора в специализированных клетках листовых подушечек. Яркими примерами настических движений, не включающих роста, служат никтинастии листьев («сон листьев»), которые можно наблюдать у фасоли (*Phaseolus vulgaris*), клевера (*Trifolium repens*), кислицы (*Oxalis acetosella*) и мимозы стыдливой (*Mimosa pudica*). Листочки никтинастических растений принимают вертикальное (т. е. закрытое) положение в темноте и возвращаются к горизонтальному (открытому) на свету. При закрывании в «спящее» положение листочки могут складываться вверх (у клевера) и книзу (у кислицы обыкновенной).

Не все ростовые движения обязательно являются результатом действия какого-либо внешнего раздражителя, хотя факторы окружающей среды могут оказывать на них определенное влияние. Примерами спонтанных (автономных) движений, причины которых возникают в самом растении, служат *нутации* и *эпинастические движения*.

При ростовых движениях, происходящих в ответ на внешний раздражитель, можно измерить скорость реакции. Обычно после действия раздражителя следует *латентный период* (или лаг-период), который предшествует началу дифференциального роста. То, что происходит во время латентного периода, несомненно, приводит в действие механизм дифференциального роста двух сторон органа, и протекающие во время этого периода физиологические и биохимические процессы вызывают особый интерес у физиологов растений.

Ростовые изгибы органов растений возникают в результате различного удлинения их выпуклой и вогнутой сторон. Как подчеркивают Ферн и Дигби (1980), измерение угла перемещения органа в результате изгиба выражает лишь чистую разницу в росте его противоположных сторон, но не позволяет установить следующие возможные пути, за счет которых эта разница достигается: а) увеличение скорости роста одной стороны без изменения ее на другой; б) снижение скорости роста одной стороны без изменения ее на другой; в) различное ускорение роста противоположных сторон; г) различное торможение роста противоположных сторон; д) ускорение роста одной стороны и замедление роста другой.

На основе проведенных измерений скоростей роста противоположных сторон изгибающихся органов растений было установлено, что у различных растений и органов ростовые изгибы происходят за счет действия более чем одного из отмеченных выше (а—д) взаимоисключающих процессов.

Последний общий вопрос, который возникает в связи с индуцированными внешними факторами ростовыми движениями, следующий: всегда ли существует разделение зоны восприятия внешнего раздражения и зоны реакции (т. е. всегда ли во время преобразования информации происходит межклеточная передача сигнала от клеток, имеющих рецепторный аппарат, к клеткам, реагирующим на сигнал)?

Все эти общие соображения и вопросы нужно помнить при рассмотрении следующих примеров ростовых движений растений.

7.2. КРУГОВЫЕ НУТАЦИИ

Одним из примеров нутационного движения служит рост стебля растения, поскольку он не растет прямо вверх, а совершает ритмические движения, в результате чего верхушка побега

колеблется относительно продольной оси. Аналогичные колебательные движения наблюдаются у корней при их росте. Этот особый тип нутации, называемый *круговой нутацией*, особенно резко выражен у побегов и усиков вьющихся растений, что, по-видимому, обеспечивает биологическое преимущество в поиске опоры.

Как известно, круговые нутации обусловлены различными скоростями роста растяжением на разных сторонах органа. Для проявления круговой нутации скорости удлинения сторон по окружности органа должны ритмически изменяться, отчего и возникает раскачивание растения. Для объяснения круговой нутации было предложено несколько механизмов, в том числе: а) автономные колебательные изменения концентраций эндогенных ростовых гормонов вокруг оси органа, б) «перекompенсация» геотропической реакции, в) комбинации автономных процессов и геотропической перекompенсации.

7.3. ЭПИНАСТИЧЕСКИЕ ДВИЖЕНИЯ

Углы, под которыми листья и боковые ветви отходят от стебля у двудольных и голосеменных, определяются относительными (дифференциальными) скоростями роста растяжением внутренней (адаксиальной) и наружной (абаксиальной) сторон органов. В качестве примера *эпинастии* листьев можно привести ростовой изгиб черешка: верхняя (адаксиальная) сторона удлиняется быстрее, чем нижняя (абаксиальная), в результате чего по мере роста листовая пластинка движется вниз (рис. 7.1). При *гипонастии* (движении кверху) более быстрым ростом характеризуется абаксиальная сторона органа. Эпинастические движения листа происходят за счет ростового изгиба, который по мере развития листа распространяется базипетально от основания листовой пластинки вдоль черешка. Достигнув зрелого состояния, лист принимает окончательное положение относительно вертикальной плоскости, и эпинастические или гипонастические движения в нормальных условиях прекращаются (хотя фототропические *латеральные* движения все еще могут происходить).

Как известно, эпинастии возникают главным образом в результате действия внутренних стимулов (т. е. являются автономными ростовыми движениями), и при этом *направление* изгиба не зависит от внешних факторов. Автономная природа эпинастии отличает ее от всех видов тропизма, где ориентация происходит с учетом направления действия внешнего раздражителя, а также и от других настических движений, таких, как никтинастии и тигмонастии, контролируемые в основном внешними раздражителями. Тем не менее факторы окружающей среды могут оказывать значительное влияние на степень эпинастиче-

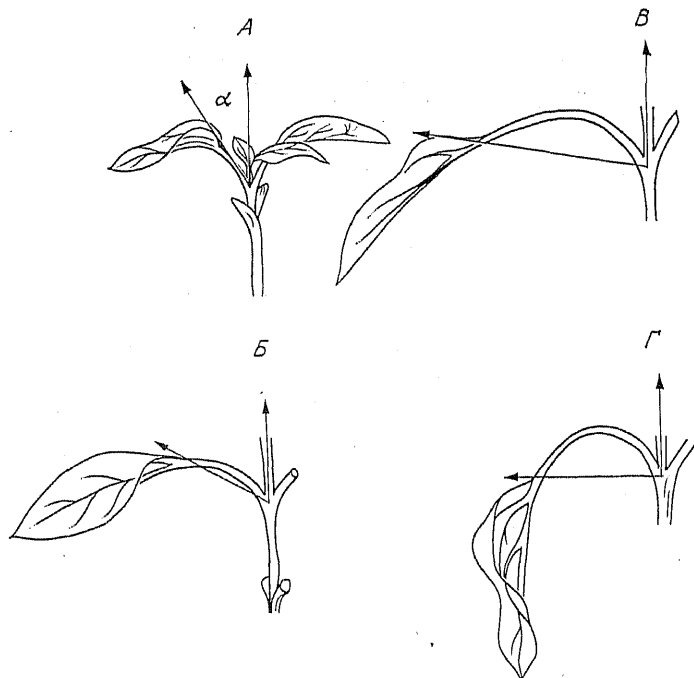


Рис. 7.1. Изменение ориентации листовой пластинки и черешка у подсолнечника *Helianthus annuus* в процессе роста. (J. H. Palmer, I. D. J. Phillips, *Physiol. Plant*, 16, 572—584, 1963.)

А. Молодой распускающийся лист, появляющийся из терминальной почки. Б. Лист в фазе быстрого роста. В. Зрелый лист. Г. Стареющий лист. α — угол ориентации.

ского изгиба. Так, гравитация, аэрация почвы, атмосферные газы могут индуцировать дальнейшие эпинастические движения даже у зрелых листьев (рис. 7.2).

Эпинастические и гипонастические движения листьев в течение многих лет являются объектом исследования физиологии растений, и есть все основания утверждать, что природа этих движений связана с действием известных фитогормонов. Особое значение имеют этилен и ауксин, играющие важную роль в движениях черешков при ориентации листьев у двудольных. К сожалению, до сих пор неизвестно, что лежит в основе действия этих двух гормонов. Обработка растений экзогенными этиленом или ауксином индуцирует эпинастии листьев (и других органов, таких, как боковые побеги)? По-видимому, эпинастии всегда связаны с высоким уровнем этилена. Ауксины, как известно, стимулируют биосинтез этилена в растениях (с. 182 и рис. 5.13)

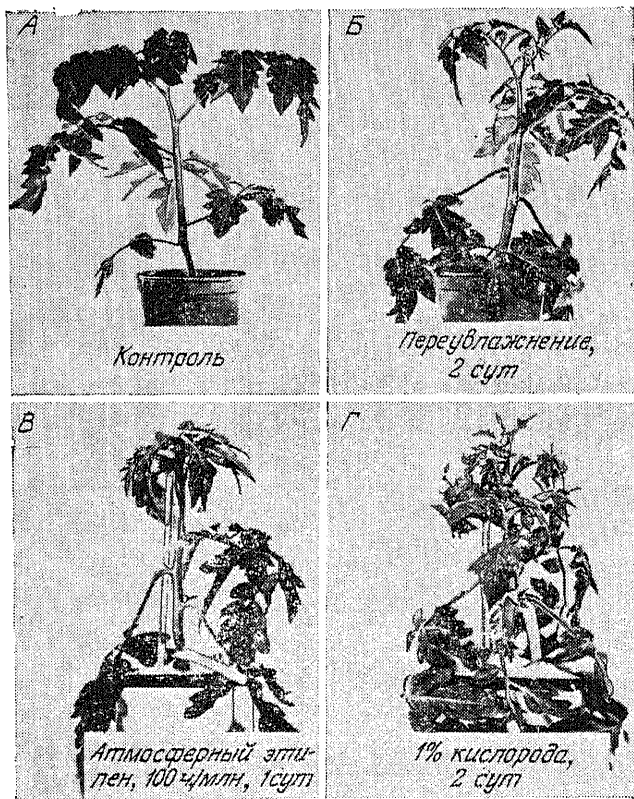


Рис. 7.2. Эпинастические реакции корней растений томата на переувлажнение почвы (Б), высокую концентрацию атмосферного этилена (В) или недостаточную аэрацию корневой системы, находящейся в питательном растворе (Г). (Фотографии любезно предоставлены д-ром М. В. Jackson, Великобритания.)

и в индукции эпинастий, очевидно, играют роль посредника, т. е. действуют через образование этилена.

Значение этилена и ауксина в регуляции эпинастических ростовых движений было также убедительно продемонстрировано при изучении влияния анаэробных переувлажненных почв на развитие растений. Различные симптомы «затопления» проявляются обычно довольно быстро. После того как корни попадают в анаэробные условия, эпинастические движения начинаются примерно через день (рис. 7.2). Ферментативное превращение непосредственного предшественника этилена в растениях 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК) (с. 108) — реакция, требующая кислорода. У растений в условиях затопления АЦК, вырабатываемая в корнях, находящихся в анаэробных

условиях, не может превращаться в этилен, а перемещается вверх в побег, где наличие атмосферного кислорода обеспечивает возможность этого превращения. Роль ауксина в указанных процессах не вполне ясна, хотя, как мы уже говорили, он стимулирует образование АЦК и этилена. По-видимому, ауксин, образующийся в апикальной зоне побега, проникает в корни, где стимулирует образование АЦК.

7.4. ТИГМОТРОПИЗМ И ТИГМОНАСТИЯ

Знакомый вид обвивающихся вокруг опоры усиков гороха или других вьющихся растений — хороший пример ответной реакции на контакт или механический стимул. Усики некоторых растений являются *тигмотропическими* (т. е. направление изгиба определяется той стороной усика, поверхность которой раздражена касанием), тогда как у других видов закручивание происходит в определенном направлении независимо от того, на какую сторону действует раздражитель; усики таких видов называют *тигмонастическими*. В морфологическом плане усик может представлять собой видоизмененный лист (например, у гороха) или побег [например, у винограда (*Vitis vinifera*)]. Усики выполняют опорную функцию, поддерживая растение за счет обвивания опоры. После тактильного раздражения видимая ответная реакция наступает довольно быстро, лаг-фаза (латентный период) колеблется приблизительно от 0,5 до 35 мин в зависимости от вида растения. У некоторых видов усики образуют клейкие прослойки (например, у *Parthenocissus tricuspidata*), а не просто плотно обвивают опору, как, например, у гороха.

У завивающихся усиков первая реакция может проявляться довольно быстро, выражаясь в образовании изгиба в месте действия раздражителя, однако постепенно она сменяется медленным, но продолжительным процессом изгибания по всей длине усика (как акропетально, так и базипетально), приводящим к образованию серии витков. Быстрая начальная реакция происходит, по-видимому, на основе тургорных механизмов и связана с движением раствора в клетки, расположенные вблизи зоны действия тактильного раздражителя, и из них. У гороха ранняя быстрая реакция может усиливаться светом или АТФ, и некоторые исследователи предполагают, что раннее завивание усиков гороха может быть связано с участием в этом процессе сократительного белка, чувствительного к АТФазе. Однако пока нет убедительных экспериментальных данных, подтверждающих это предположение.

Ауксин и этилен, несомненно, имеют отношение к движению усиков, поскольку они могут индуцировать завивание в отсутствие каких-либо контактных раздражителей, однако точная их роль не установлена. Ауксин индуцирует скручивание только в

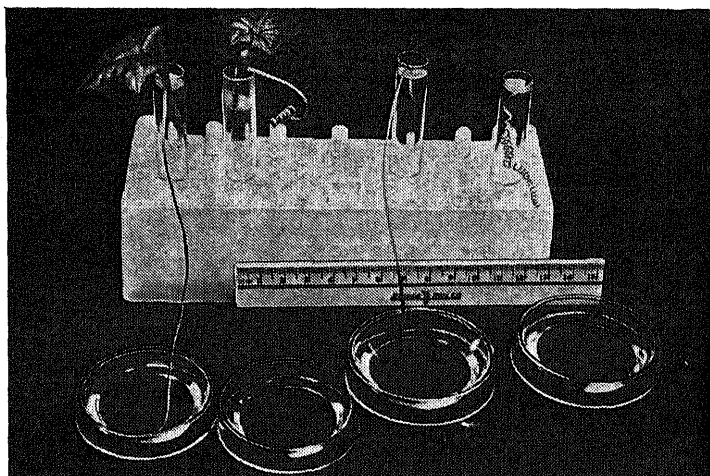


Рис. 7.3. Замена ауксином (ИУК) контактного раздражителя в индукции скручивания усика. (Фотография любезно предоставлена д-ром Leonora Reinhold, Израиль.)

Усики *Marah fabaceus* спустя 15 ч после того, как их кончики были погружены в воду (первый и третий слева) и в раствор ИУК (150 мг/дм³; второй и четвертый слева). В результате скручивания усики поднялись над раствором.

том случае, если усик целиком плавает на поверхности раствора ИУК или если его кончик погружен в раствор (рис. 7.3), а раздраженные прикосновением усики гороха выделяют этилен со скоростью в несколько раз большей, чем это происходит в других частях побега гороха.

Усики должны обладать рецептором, чувствительным к прикосновению (*механорецептор*), раздражение которого вызывает серию процессов, в том числе и гормональных, приводящих к морфологически выраженной реакции. Хотя детали механорецепции совершенно непонятны, чувствительные органы, такие, как усики, проявляют определенные морфологические черты, которые, по-видимому, связаны с восприятием раздражения. При помощи сканирующего электронного микроскопа удалось обнаружить наличие различных клеток выпуклой формы, названных тактильными папиллами (например, у *Eccretocarpus scaber*), бородавчатые выступы эпидермальных клеток, названных тактильными пузырьками (*Luffa cylindrica*). Многие виды хотя и не имеют таких специализированных клеток, тем не менее обладают морщинистой или гофрированной тигмочувствительной эпидермальной поверхностью.

Механическое раздражение воспринимается, по-видимому, поверхностью клетки, в основном ее мембраной, которая деформируется под действием механических сил, и, кроме того, между

твердым раздражителем и поверхностью клетки, вероятно, возникает электростатическое взаимодействие. Обращает на себя внимание особенно хорошо развитая связь между механорецепторными и окружающими клетками, которая осуществляется посредством плазмодесм. Эта особенность может играть определенную роль в передаче местных эффектов раздражения в другие части усика, где происходит реакция.

Механическое раздражение, особенно трение, также вызывает у большинства растений (не считавшихся ранее чувствительными к прикосновению) ростовую реакцию, причем стебли многих сосудистых растений удлиняются медленнее, но в диаметре увеличиваются более чем обычно, что выражается в образовании короткого приземистого побега. Это явление было названо *тигмоморфогенезом*, т. е. реакция развития в ответ на механическое раздражение.

Тигмоморфогенетические реакции связаны с усилением синтеза этилена в тканях, раздраженных действием механического фактора. В связи с этим можно предположить, что они представляют собой процессы развития, индуцируемые этиленом. Подтверждением такой точки зрения могут служить следующие факты: ингибиторы синтеза этилена предотвращают тигмоморфогенез, тогда как этилен или его производные, например 2-хлорэтанфосфоновая кислота (с. 227), могут индуцировать тигмоморфогенез и без действия механических раздражителей.

7.5. ХЕМОТРОПИЗМ И ГИДРОТРОПИЗМ

Тропическое движение органа растения в ответ на внешний химический раздражитель называется *хемотропизмом*. Примером хемотропизма может служить рост пыльцевой трубки в столбике по направлению к семязачатку; такой направленный рост пыльцевой трубки обусловлен наличием в семязачатке и стенках завязи определенных химических веществ, точная природа которых неизвестна.

Иногда говорят, что корни реагируют на различное содержание почвенной влаги и растут в сторону большего водного потенциала. Это явление называли *гидротропизмом*. Однако прямых данных, свидетельствующих об истинном гидротропизме у растений, пока нет. Другими словами, маловероятно, что корни способны обнаруживать и проявлять тропическую реакцию на градиент водного потенциала в окружающих их условиях.

7.6. ФОТОТРОПИЗМ

Термином *фототропизм* называют явление чувствительности органа растения на направленный («односторонний») световой раздражитель, в результате действия которого возникает на-

правленная, или дифференциальная, ростовая реакция. Как мы уже отмечали (с. 81), изучение фототропизма привело к открытию ауксинов. Фототропизм отличается от фотоморфогенеза (гл. 8) тем, что фотоморфогенетические реакции не зависят ни от характера *направленного* светового раздражителя, ни от направления, откуда этот раздражитель поступает.

Обычно стебли и другие надземные органы проявляют положительный фототропизм (т. е. изгибаются по направлению к источнику света), тогда как корни и другие подземные органы характеризуются отрицательным фототропизмом (изгибаются в противоположную от источника света сторону). Тем не менее существует множество исключений из этого правила; например, некоторые усики и стебли проявляют отрицательный фототропизм, а многие корни в молодом возрасте не фототропны или даже положительно фототропны и лишь позднее становятся отрицательно фототропными. Несомненно одно — фототропизм играет важную роль в детерминации направления развития органа в естественных условиях. Фототропные реакции по определению могут происходить только в тех частях растения, которые сохранили способность к росту, особенно к удлинению. Следовательно, фототропизм наблюдается у молодых растущих стеблей, листьев и корней высших растений, у спорангиеносцев некоторых грибов, спорофоров мхов и хлором папоротников. Однако основная масса исследований по фототропизму была проведена на этиолированных колеоптилях проростков злаков (в основном овса, пшеницы, кукурузы и ячменя), а также на спорангиеносцах грибов. Эти органы наиболее удобны для исследования и обладают высокой чувствительностью к направленному освещению. Хотя эти работы дали много ценной информации о фототропизме, полученные данные нельзя прямо перенести на другие органы, такие, как зеленые облиственные побеги, растущие в условиях естественного дневного света.

Как и любая индуцированная внешними факторами адаптивная реакция, фототропизм в первую очередь включает *восприятие* стимула (направленного света), после чего следует развитие *ответной реакции* (направленный рост). Механизмы восприятия и ответной реакции можно рассматривать отдельно, но нельзя забывать, что в растении оба этих процесса взаимосвязаны.

Первый серьезный шаг в исследовании фототропизма был сделан Чарлзом Дарвином (1880) в его работах по фототропическим реакциям колеоптилей (гл. 3). В частности, он показал, что кончик колеоптиля является зоной, воспринимающей направленный световой раздражитель, а ростовая реакция возникает ниже. Хотя впоследствии было обнаружено, что и у основания колеоптиля сохраняется некоторая чувствительность к направленному свету, основные результаты и заключения Ч. Дарвина в отношении колеоптилей были подтверждены. Таким обра-

зом, кончик колеоптиля представляет собой зону максимальной фоточувствительности, которая воспринимает направленный световой раздражитель и передает влияние базипетально, вызывая дифференциальный рост в удлиняющихся частях колеоптиля.

7.6.1. Природа фоторецептора в фототропизме

а. *Зависимость доза—эффект.* В начале XX столетия до открытия ауксина основное внимание в экспериментальной работе по фототропизму уделялось биофизическим аспектам. Еще в 1909 г. Блау установил, что для колеоптилей злаков и спорангиеносцев фикомицетов закон количества раздражения Бансена—Роско справедлив при довольно широких пределах интенсивности освещения и времени. Закон количества раздражения гласит, что, когда функционирует только один фоторецептор, фотохимический эффект света остается таким же, если количество, или доза, света (т. е. уровень излучения \times продолжительность излучения) остается постоянным. Следовательно, наблюдения Блау показывали, что в фототропизме действует один фоторецептор, и логически вели к исследованию *спектров действия* фототропизма с целью идентификации пигмента, связанного с восприятием направленного света.

Тем не менее зависимость доза—эффект в фототропизме намного сложнее, чем кажется с первого взгляда. Так, в экспериментах на этиолированных колеоптилях было установлено, что с увеличением количества раздражения изгиб по направлению к источнику света увеличивается, но до определенной пороговой величины (приблизительно $0,1 \text{ Дж} \cdot \text{м}^{-2}$ световой энергии), превышение которой ведет к снижению ответной реакции до некоторого начального значения, а иногда «положительная реакция» может даже перейти в «отрицательную» (т. е. изгиб в сторону, противоположную источнику света). При дальнейшем увеличении количества раздражения реакция может снова стать положительной (рис. 7.4). Как было установлено, закон количества раздражения Бансена—Роско справедлив только для первой положительной и первой отрицательной реакций.

б. *Изучение спектра действия фототропизма.* Важным этапом в понимании некоторых фотобиологических процессов явилась идентификация у чувствительных организмов первичного фоторецепторного пигмента. Первое, с чего начинается поиск фоторецептора, — это, как правило, определение спектра действия фотобиологического процесса. Исследования по идентификации фототропического фоторецептора, таким образом, сконцентрировались на попытках подобрать спектр действия и спектры поглощения предполагаемых фоторецепторных пигментов. Полученные данные пока еще не позволяют высказать определенное мнение относительно природы этого пигмента. Спектр действия

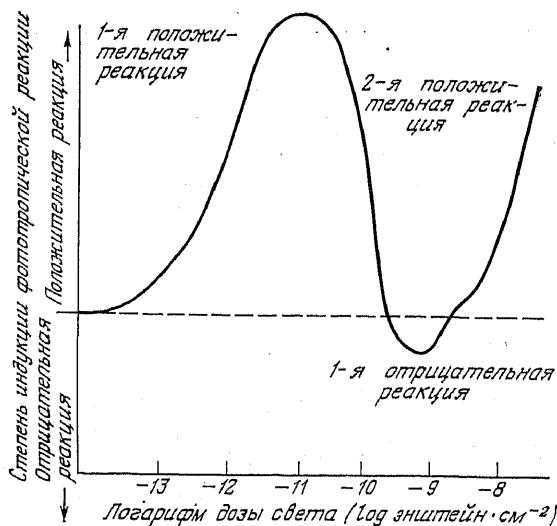


Рис. 7.4. Зависимость фототропического изгиба от дозы синего света при одностороннем освещении coleoptiles овса. (По W. R. Briggs, 1964. In *Photophysiology*, vol. 1, (ed. A. C. Giese), 223—271. Academic Press, New York and London, 1964.)

Колеоптили других зерновых характеризовались такой же зависимостью, за исключением того, что не всегда имели четко выраженную первую отрицательную реакцию.

для первого положительного изгиба coleoptilia показывает, что максимальный изгиб происходит в ответ на действие света в синей области (максимум приблизительно при 445 и 474 нм, а также небольшое повышение при 425 нм). Другой, более низкий максимум имеет место в ультрафиолетовой области (приблизительно при 370 нм). Существует четкая граница активности (приблизительно до 500 нм), и свет с большей длиной волны не активен.

Точные измерения показали, что спектр действия положительного фототропизма у спорангиеносцев фикомицетов почти идентичен таковому для coleoptiles овса и других зерновых. Следовательно, подобный фоторецептор, видимо, существует и у большинства организмов. Такие спектры действия наводят на мысль, что фоторецептором в фототропизме является желтый пигмент. Наиболее вероятно, что им может быть либо каротиноид, либо флавин. Спектры поглощения β -каротина и рибофлавина показаны на рис. 7.6; хотя оба пигмента имеют максимумы поглощения в синей области, ни один из спектров поглощения полностью не совпадает со спектром действия фототропизма (рис. 7.5).

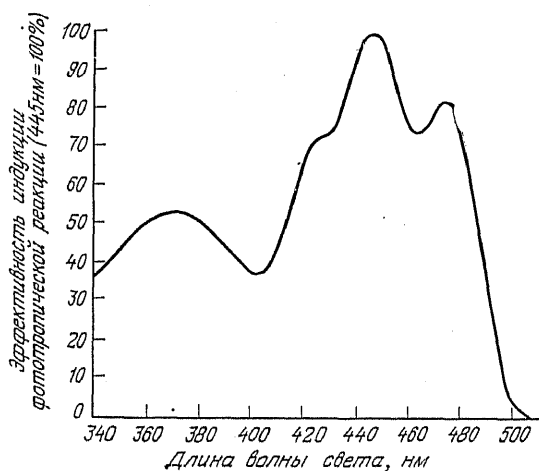


Рис. 7.5. Спектр действия первой положительной реакции coleoptилей овса. Максимум кривой наблюдается при одностороннем освещении синим светом. (K. V. Thimann, G. M. Curry, Comparative Biochem., 1, 243—306, Academic Press, 1960.)

Таким образом, изучение спектра действия природных пигментов, каротиноидов и флавинов, не дало точного ответа на вопрос о природе рецептора фототропизма. Тем не менее исследования последних лет позволяют предположить, что фоторецептором фототропизма может и в самом деле быть флавопротеидный комплекс флавина (возможно, рибофлавин) и цитохрома *b*-типа и что этот флавин/*b*-цитохромный комплекс связан с мембраной. Работа, которая породила эту интересную современную гипотезу, была впервые проведена в 1974 и 1975 гг. на клетках слизевика *Dictyostelium discoideum* и на грибах *Phycomyces blakesleeana* и *Neurospora crassa*.

Было установлено, что синий свет (максимум около 465 нм) вызывает у этих низших организмов фотовосстановление цитохрома *b*-типа, поскольку сам цитохром не поглощает сколько-нибудь значительно в этой области спектра. Дальнейшее исследование показало, что флавин поглощает синий свет и близкая связь между флавином и цитохромом приводит в результате к фотовосстановлению последнего. Предварительное фракционирование клеток и другие исследования, проведенные на *Neurospora*, а также на coleoptилях кукурузы, привели к предположению, что клетки обоих организмов содержат похожие флавин/*b*-цитохромные фоторецепторы, которые связаны с плазматической мембраной. Последующие детальные исследования могут дать ответ на вопрос, является ли этот флавин/цитохромный комплекс фоторецептором в фототропизме.

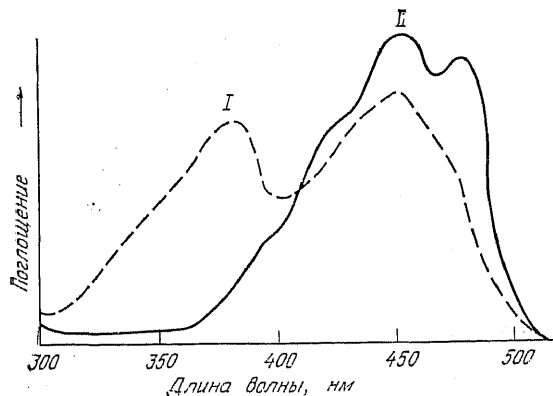


Рис. 7.6. Спектры поглощения рибофлавина (I) и β -каротина (II). Ни один из них не совпадает со спектром действия фототропизма (рис. 7.5), однако когда определение рибофлавина ведется в липондном растворителе, его спектр поглощения в большей степени сходен со спектром действия.

Фитохром — фоторецептор, поглощающий красный и дальний красный свет и принимающий участие в многочисленных явлениях фотоморфогенеза растений (гл. 8), — по-видимому, не принимает непосредственного участия в фототропизме. Однако известно, что освещение красным светом (не направленным) влияет на чувствительность органов растения к направленному синему свету, причем эффект красного света может быть изменен на противоположный при освещении дальним красным. Полученные результаты свидетельствуют о том, что фитохром представляет собой пигмент, который служит посредником эффектов красного света в фототропизме, однако неясно, каким образом фитохром связан с системой фототропизма.

7.6.2. Передача раздражения при фототропизме этиолированных колеоптилей

А. ГИПОТЕЗА, ОСНОВАННАЯ НА ЛАТЕРАЛЬНОЙ АСИММЕТРИИ СОДЕРЖАНИЯ АУКСИНА

Согласно трем основным выдвинутым гипотезам, передача раздражения в фототропизме обусловлена неодинаковыми уровнями ауксина в освещенной и затененной сторонах органа.

1. Гипотеза Холодного — Вента

Эта гипотеза была независимо сформулирована Н. Г. Холодным и Ф. Вентом в 1920-х годах. Сущность ее заключалась в том, что односторонний световой раздражитель вызывает ла-

геральный транспорт молекул ауксина через наиболее фоточувствительную область колеоптиля (верхушечную зону) к более темной стороне, в результате чего концентрация ауксина на более темной стороне оказывается выше, чем на освещенной половине верхушки. Гипотеза предусматривала поступление значительного количества ауксина от затененной половины в субапикальные ткани этой стороны. Следовательно, субапикальные ткани должны удлиняться быстрее, чем ткани, «обедненные» ауксином; иными словами, должна происходить положительная фототропическая реакция.

2. Гипотеза фоторазрушения ауксина

При воздействии света на раствор ИУК происходит фотоокисление ИУК с образованием гормонально неактивных продуктов (с. 87), особенно в присутствии поглощающего синий свет пигмента, такого, как рибофлавин. На основании этого было выдвинуто предположение, что на освещенной стороне верхушки колеоптиля может происходить фоторазрушение ауксина, что приводит к различию в концентрациях ауксина на двух сторонах верхушки. Это в свою очередь обуславливает дифференциальный рост и изгиб.

3. Гипотеза фотоингибирования синтеза ауксина

Согласно этой гипотезе, синтез ауксина на освещенной стороне верхушки колеоптиля подавляется.

Заметим, что если гипотезы 2 и 3 справедливы, то одностороннее освещение верхушки колеоптиля должно приводить к уменьшению общего количества содержащегося в верхушке ауксина. Гипотеза 1 предполагает, что одностороннее раздражение верхушки светом не должно отражаться на общем содержании ауксина.

Б. ГИПОТЕЗА ПРЯМОЙ СВЕТОРОСТОВОЙ РЕАКЦИИ

Основные положения этой гипотезы сводятся к следующему:

- 1) свет может оказывать непосредственное влияние на скорость роста клеток;
- 2) непосредственный эффект света на рост пропорционален уровню освещенности;
- 3) ауксин необязательно прямо включен в светоростовую реакцию.

Теперь в первую очередь рассмотрим три гипотезы, основанные на латеральной асимметрии уровня ауксина. Гипотеза прямой светоростовой реакции будет рассмотрена ниже (7.6.3).

В. ДАННЫЕ, ОТНОСЯЩИЕСЯ К ГИПОТЕЗЕ ФОТОТРОПИЗМА,
ОСНОВАННОЙ НА ЛАТЕРАЛЬНОЙ АСИММЕТРИИ КОНЦЕНТРАЦИИ АУКСИНА

Оригинальное доказательство классической теории Холодного—Вента базируется на работе, сделанной одновременно Бойсен-Йенсеном и Вентом в 1928 г. Бойсен-Йенсен поставил простой эксперимент на coleoptiliaх овса, в котором небольшая тоненькая пластинка слюды вставлялась поперек coleoptили чуть ниже верхушки таким образом, что перекрывала половину площади его поперечного сечения, выполняя функцию барьера на пути потока ауксина. Когда пластинка устанавливалась с освещенной стороны, у coleoptилей происходил нормальный положительный фототропический изгиб, но установление пластинки на теневой стороне препятствовало развитию фототропической реакции (рис. 7.7, А). Эти результаты наводили на мысль, что фототропизм включает транспорт ауксина от затененной стороны верхушки, но не давали какого-либо подтверждения латерального перемещения ауксина, как предполагали Холодный и Вент. В дальнейших экспериментах Бойсена-Йенсена пластинки

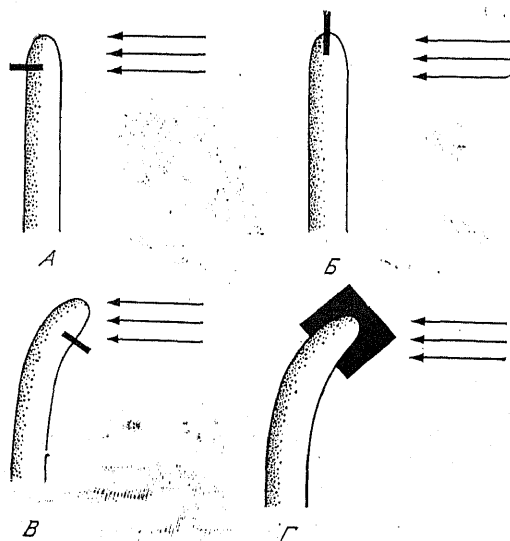


Рис. 7.7. Два эксперимента, выполненные Бойсен-Йенсеном в 1928 г., которые показывают, что ауксин движется вниз преимущественно по теневой стороне coleoptилей, освещенных с одной стороны (А), и что при этом происходит латеральный транспорт ауксина от освещенной к затененной стороне. Ростовой изгиб происходит только при отсутствии препятствия базипетальному транспорту ауксина на затененной стороне (В). Пластинка слюды, помещенная в верхушку под прямым углом к падающему свету, препятствует развитию фототропической реакции, поскольку, по-видимому, мешает латеральному транспорту ауксина (Б). Пластинка слюды, помещенная параллельно световым лучам, не оказывает влияния на возникновение ростового изгиба (Г).

устанавливали вертикально в верхушках coleoptилей, после чего coleoptили освещали односторонним светом. Положительная фототропическая реакция наблюдалась только в том случае, если слюдяная пластинка была расположена параллельно световым лучам (рис. 7.7, Г). Следовательно, фототропический изгиб coleoptили возникал только тогда, когда латеральный транспорт ауксина в верхушечной зоне не был перекрыт барьером.

Более прямое подтверждение латерального транспорта ауксина у фототропически раздражаемых верхушек coleoptилей было получено Вентом в 1928 г. Он измерил количество ауксина, которое накапливалось в агаровых блоках, помещенных под освещенной и затененной сторонами отрезанной верхушки coleoptили (рис. 7.8), и обнаружил, что односторонний свет увеличивает содержание ауксина в агаровом блоке, расположенном под затененной стороной. Позднее, в 1957 г., Бригс и его сотрудники поставили серию экспериментов на coleoptилях кукурузы (*Zea mays*). В сущности, данные Бригса подтвердили ранние работы Бойсена-Йенсена и Вента. Результаты этих экспериментов показали, что различия в концентрациях ауксина могут быть следствием только светоиндуцированного латерального транспорта от светлой к темной стороне. Собрав в агаровые блоки ауксин, диффундировавший из верхушек coleoptилей, подвергнутых различной обработке, Бригс определил его количественное со-

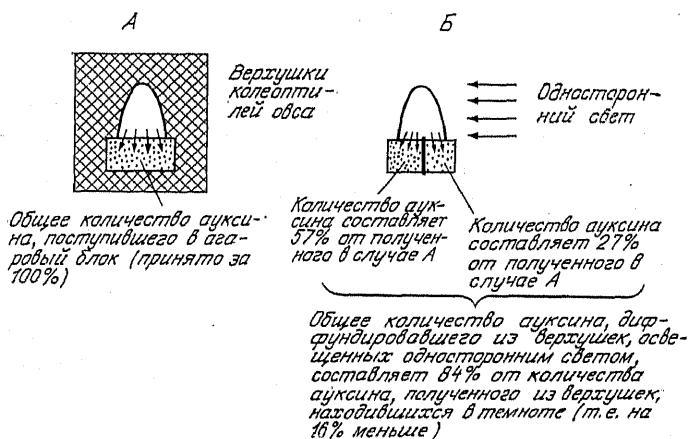


Рис. 7.8. Оригинальный эксперимент Вента, показавший, что при одностороннем освещении верхушек coleoptилей овса больше ауксина диффундирует в агаровый блок, расположенный под теневой стороной, чем в блок под освещенной стороной (Б). Общее количество ауксина, поступавшего из освещенных верхушек, было на 16% меньше, чем из верхушек, содержащихся в темноте (А). Данное различие, по-видимому, не имеет существенного значения. (F. W. Went, Rec. Trav. Bot. Neerl., 25, 1—116, 1928.)

держание с помощью «овсяной» пробы. Количество ауксина, образовавшегося в верхушке, содержащейся при полной темноте, и в верхушке, подвергнутой действию света, способному вызвать первую положительную реакцию (рис. 7.4), было почти одинаковым независимо от того, были ли верхушки разделены на две половины вертикальной тонкой стеклянной пластинкой или нет (рис. 7.9, А—Г). Эти результаты идут вразрез как с гипотезой фоторазрушения ауксина, так и с гипотезой фотоингибирования его синтеза. В дальнейших экспериментах верхушку только частично разделяли в основании стеклянной пластинкой и затем помещали на два отдельных агаровых блока. В этом случае односторонний свет, направленный под прямым углом к плоскости стеклянной пластинки, вызывал диффузию большего количества ауксина в блок, на котором находилась та половина, которая была дальше от источника света (рис. 7.9, Д). Однако если верхушку полностью разделяли на две половины стеклянной пластинкой и помещали на два отдельных агаровых блока, то различий в количествах ауксина в блоках «светлой» и «темной» сторон не наблюдалось (рис. 7.9, Б). Если процессы разрушения ауксина или ингибирования его синтеза ответственны за наблюдаемые у частично расщепленных верхушек различия в распределении ауксина, то следует ожидать, что при сплошной стеклянной перегородке, как на рис. 7.9, Е, таких различий быть не должно. Тот факт, что сплошная перегородка полностью преобразовывает неэквивалентное распределение ауксина, привел Бригса к заключению, что неодинаковое распределение ауксина, наблюдаемое у фототропически отзывчивых верхушек колеоптилей, происходит вследствие латерального движения ауксина по направлению к темной стороне, а не в результате фоторазрушения или фотоингибирования синтеза этого гормона.

Подводя итог, следует сказать, что, по имеющимся данным, при освещении верхушек этиолированных колеоптилей низкими дозами одностороннего света в первую очередь происходит восприятие светового раздражения, а затем следует поперечное перемещение молекул эндогенного ауксина в пределах верхушки. В случае положительной фототропической реакции ауксин движется к затененной стороне, т. е. больше ауксина перемещается в зону реакции, расположенную под более темной половиной верхушки, и как следствие этого происходит усиленный рост растяжением в этой области, в результате чего весь колеоптиль изгибается по направлению к источнику света.

Таким образом, существующие убедительные данные, полученные в течение нескольких десятилетий, по-видимому, свидетельствуют о том, что у этиолированных колеоптилей фототропизм обусловлен светиндуцированным латеральным транспортом эндогенного ауксина (т. е. согласно гипотезе фототропизма Холодного—Вента). Тем не менее вполне естественно сделать

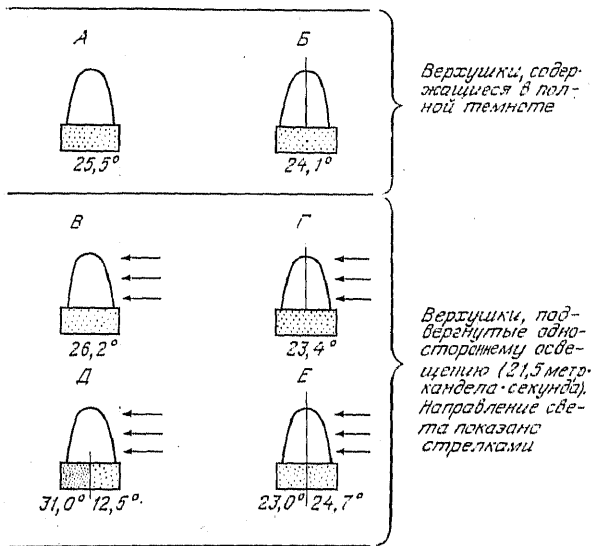


Рис. 7.9. Диффузия ауксина в агаровые блоки, происходящая из верхушек колеоптилей кукурузы, подвергнутых различным воздействиям. (W. R. Briggs, R. D. Tocher, J. F. Wilson, Science, 126, 210—212, 1957.)

Цифры обозначают степень изгиба, вызываемого данным блоком в биотесте Вента с использованием колеоптилей овса. Вертикальные линии — непроницаемые стеклянные перегородки. В два раза большее количество ауксина было получено в случаях Д и Е по сравнению с А и Г потому, что агаровый блок находился в контакте с шестью половинками верхушек, что соответствует трем полным верхушкам, как в случаях А—Г включительно.

оговорку относительно гипотезы фототропизма этиолированных колеоптилей Холодного—Вента. Основания для этого можно объединить в пять следующих пунктов (многие сходные критические замечания относятся также к фототропизму зеленых неэтиолированных органов растений):

1. Все количественные измерения получения эндогенных ауксинов, полученных из верхушек колеоптилей в связи с фототропизмом, проводились с помощью биотестов, которые могут приводить к существенным ошибкам.
2. Различие в концентрации ауксина между двумя половинами фототропически раздраженных верхушек никогда не превышало пятикратной величины, а чаще всего было двух- или трехкратным. Если учесть, что кривая зависимости роста от логарифма концентрации ауксина имеет полулогарифмическое выражение (рис. 7.10), возникает сомнение, достаточны ли двух- или трехкратные различия в латеральных концентрациях ауксина для прекращения роста одной стороны колеоптиля и поддержания или даже ускорения роста другой его стороны.

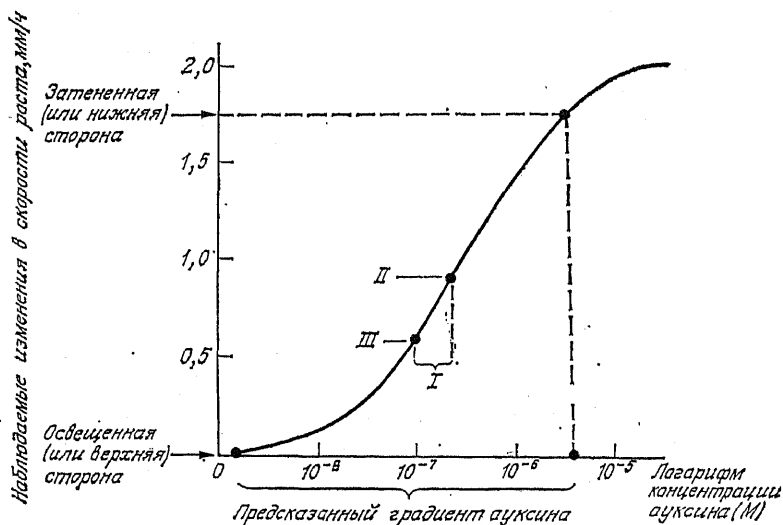


Рис. 7.10. Полулогарифмическая зависимость между концентрацией ауксина и ростом. (По А. В. Hall, R. D. Fitt, J. Digby, J. Biol. Education, 14, 195—199, 1980.)

Различия в концентрациях ауксина между быстро (II) и медленно (III) растущими сторонами, которые отмечены у тропически изгибающихся побегов, обозначены римской цифрой I. Обратите внимание на то, что различия в концентрации ауксина при необходимости могли бы быть предсказаны, если бы только они обуславливали асимметрию в скоростях роста.

3. Эксперименты с радиоактивными ауксинами показали, что при определенных условиях фототропический изгиб у этиолированных coleoptiles может происходить и без латерального перемещения ауксина, что, естественно, противоречит утверждению теории Холодного—Вента.

4. Латентный период для фототропических реакций колеблется от 6 до 30 мин в зависимости от вида и условий эксперимента. В связи с этим подвергается сомнению возможность возникновения во время латентного периода различий в концентрациях ауксина, достаточных для обеспечения дифференциального роста.

5. Зависимость между фототропическим изгибом и относительным содержанием ауксина на двух сторонах coleoptila, по-видимому, не может иметь простое количественное отношение.

Выявление указанных недостатков классической теории фототропизма Холодного—Вента привело недавно к новому подходу ко всей проблеме фототропизма (а также и геотропизма). Новый подход был связан с возрождением и усилением интереса к теории фототропизма, основанной на прямом воздействии света на рост клеток (с. 277 и 281).

7.6.3. Данные, относящиеся к гипотезе прямой светоростовой реакции

Еще в начале нашего столетия Блау обратил внимание на то, что при симметричном освещении синим светом как колеоптилей злаков, так и спорангиеносцев фикомицетов у них наблюдается кратковременное изменение скоростей роста. Это явление было названо *светоростовой реакцией*. Спектр действия светоростовых реакций у отдельных организмов соответствует спектру действия фототропизма. Некоторые исследователи, в том числе и Блау, пришли к заключению, что фототропизм может быть полностью объяснен на основе светоростовой реакции.

Таким образом, иногда высказывались предположения о том, что у колеоптилей овса, у которых синий свет вначале подавляет рост, освещение односторонним синим светом должно привести к ростовой асимметрии, обуславливающей положительный изгиб (т. е. изгиб по направлению к источнику света). Однако было трудно понять, что должно произойти после первых 20 мин., когда временное торможение роста сменяется временным увеличением скорости роста, но не исключено, что временная зависимость в условиях одностороннего освещения другая. Итак, участие светоростовой реакции в цепи процессов, ведущих к фототропическому изгибу колеоптилей или других органов высших растений, не было убедительно продемонстрировано. Позднее при обсуждении физиологических аспектов фототропизма у зеленых растений в отличие от фототропизма у этиолированных колеоптилей, являвшихся предметом многочисленных исследований по фототропизму за истекшее столетие, мы вернемся к рассмотрению прямого эффекта света на растяжение клеток.

7.6.4. Фототропизм у зеленых (неэтиолированных) растений

Большинство экспериментальных исследований по фототропизму проводили на этиолированных органах, в основном на колеоптилях, поэтому не совсем ясно, насколько правомерно использовать полученные данные и созданные на их основе концепции в отношении поведения зеленых облиственных растений. Несомненно одно, что зеленые двудольные и однодольные растения, а также этиолированные колеоптили проявляют реакцию фототропического изгиба в ответ на одностороннее освещение (рис. 7.11).

Листья зеленых растений также совершают фототропические движения, что обусловлено различными скоростями роста затененной и освещенной сторон листовой пластинки. При фототропических движениях листьев снабжение ауксином существенно необходимо для возникновения изгиба, который происходит в области черешка. При отрезании листовой пластинки (ме-

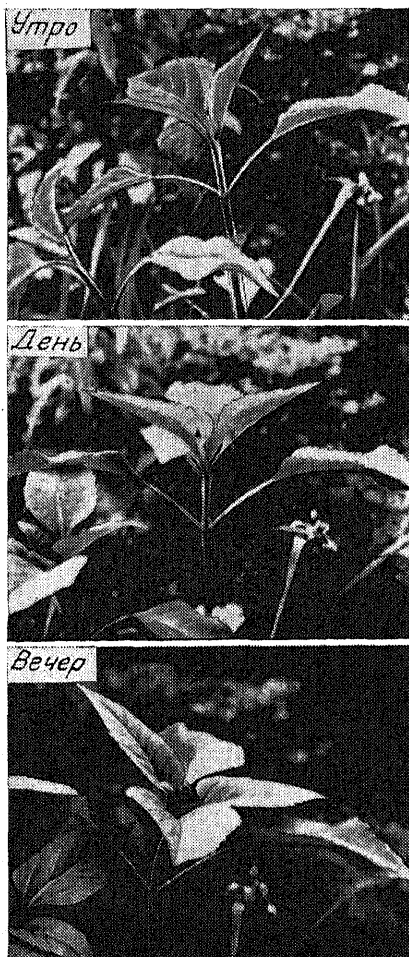


Рис. 7.11. Фототропические ростовые движения одиночного растения подсолнечника (*Helianthus annuus*). (Н. Shibaoka, T. Yamaki, Sci. Papers Call. Gen. Education, Univ. Tokyo, 9, 105—126, 1959. Фотографии любезно предоставлены д-ром Н. Shibaoka.) Фотографии сделаны с северной стороны в различное время дня. Такие «движения за солнцем» иногда называют гелиотропными, но это явление относится к фототропизму.

ста синтеза ауксина) черешок утрачивает способность к фототропической реакции, но обработка дистального конца экзогенным ауксином возвращает ему способность изгибаться.

Представляется несомненным, что фототропизм играет важную роль в экологии растений, поскольку реакция на условия освещения выражается в ориентации растения и его листьев, обеспечивающей более эффективное «улавливание» световой энергии для фотосинтеза. И хотя на растениях, выращенных на свету (как однодольных, так и двудольных), было проведено очень мало экспериментов, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что такие растения значительно менее чувствительны к направленному синему свету, чем этиолированные coleoptiles, и реагируют лишь в том случае, если энергия соответствует второй положительной ответной реакции coleoptилей (рис. 7.12). Ничего не известно о фоторецепторном пигменте (или пигментах), принимающем участие в фототропизме зеленых растений. Изучение фототропизма облиственных побегов осложняется еще и тем, что основная часть ауксина и гиббереллина, необходимых для удлинения стебля, поступает от молодых распускающихся листьев, расположенных вблизи апекса. Другими словами, стебель получает ауксин и гиббереллин от молодого листа через черешок. Следовательно, любой фототропический изгиб такого стебля мо-

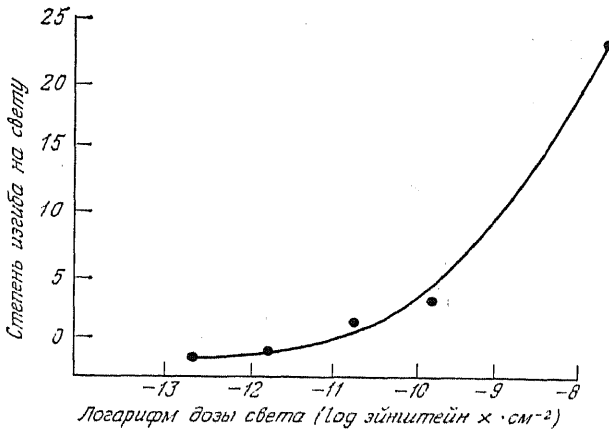


Рис. 7.12. Зависимость фототропической реакции от дозы освещения у проростков редиса. (По М. Everett, Plant Physiol.; 54, 222—225, 1974.)

Выращенные на свету (зеленые) растения проявляют фототропическую реакцию только при относительно высокой интенсивности освещения. Односторонний монохроматический синий свет (460 нм) мощностью $6 \text{ эрг} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ подавался в течение различных промежутков времени, что обеспечивало указанные различные световые дозы. Обратите внимание на то, что положительная фототропическая реакция имела место только при уровнях энергии раздражителя, соответствующих второй положительной реакции этилированных колеоптилей.

жет быть результатом изменения в распределении или количестве гормонов, поступающих от листьев. В случае подсолнечника (*Helianthus annuus*), у которого листья расположены попарно на противоположных сторонах стебля (супротивное листовое расположение), было обнаружено, что в условиях одинакового освещения каждый лист пары поставляет стеблю равное количество ауксина. Однако если ориентация растения в отношении падающего света такова, что один лист пары освещен сильнее, чем другой (рис. 7.13), то лист, получающий больше света, будет образовывать больше ауксина, чем противоположный. В результате сторона стебля под более освещенным листом получает больше ауксина и, следовательно, растет быстрее, заставляя стебель совершать положительный фототропический изгиб до тех пор, пока ориентация не станет таковой, чтобы свет падал на оба листа под одним углом (рис. 7.13). То же самое происходит при закрывании листовой пластинки непрозрачным материалом, например алюминиевой фольгой. В этом случае сторона черешка, соответствующая закрытой части листовой пластинки, будет удлиняться быстрее, и черенок изогнется, переместив лист в противоположном направлении. Одно из объяснений этих результатов состоит в том, что затененная часть листовой пластинки поставляет больше ауксина (а возможно, и гиббереллина) своей стороне черешка, чем освещенная — своей.

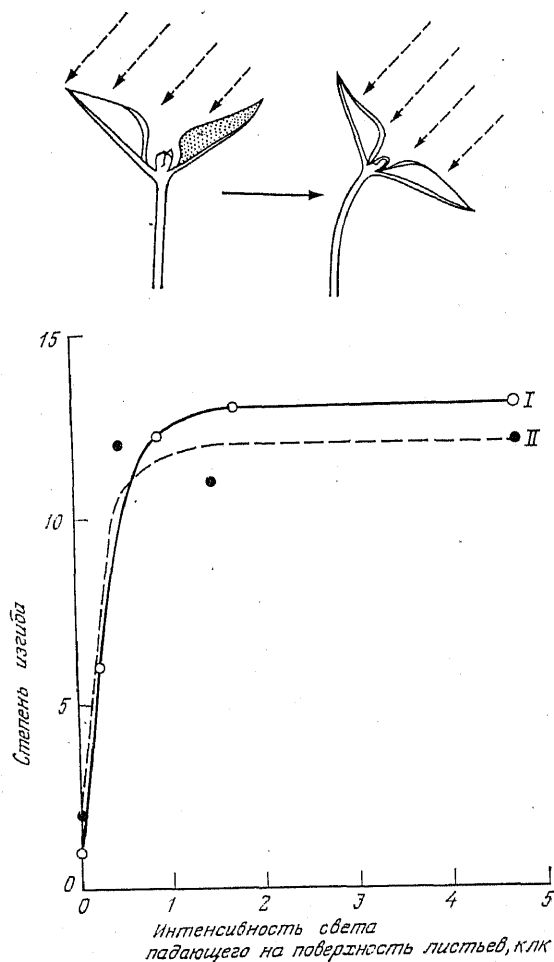


Рис. 7.13. Зависимость между образованием ауксина супротивными листьями и фототропическим ростовым изгибом стебля подсолнечника. (Н. Shibaoka, T. Yamaki, Sci. Papers Coll. Gen. Education, University of Tokio, 9, 105—126, 1959.) *Вверху*. Если свет падает неравномерно на каждый из пары листьев, то фототропический изгиб будет происходить до тех пор, пока листья не станут одинаково освещенными. *Внизу*. Влияние интенсивности света на образование ауксина в листьях и индукцию фототропических ростовых изгибов. *I* — степень изгиба растения подсолнечника в направлении света; *II* — степень изгиба coleoptилей овса, индуцированных ауксином, диффундировавшим из листьев подсолнечника.

Таким образом, имеется ряд приемлемых косвенных данных, а также некоторое число прямых, что дифференциальный рост противоположных сторон при фототропизме зеленых стеблей и листьев связан с различиями в уровнях латерального распределения ауксинов в тканях. Однако такие латеральные различия, по-видимому, не связаны с поперечным транспортом ауксина в пределах реагирующего органа (как предсказывает гипотеза Холодного—Вента; с. 270).

Измерение концентраций эндогенного ауксина в зеленых стеблях, подвергнутых одностороннему освещению, не выявило различий между освещенной и затененной сторонами (табл. 7.1). Вместе с тем, по некоторым данным, большие количества эндогенных гиббереллинов передвигаются вдоль более темной (удлиняющейся быстрее) стороны стебля подсолнечника, чем через ткани освещенной стороны. Было также обнаружено, что медленнее удлиняющиеся освещенные стороны гипокотилей проростков подсолнечника содержат больше ингибитора роста ксантоксина (с. 113), чем быстро удлиняющиеся неосвещенные стороны (табл. 7.1). Физиологическое значение латеральных различий в уровнях ксантоксина пока еще не установлено.

Таким образом, хотя побеги зеленых растений проявляют фототропическую реакцию на одностороннее освещение синим светом, имеющиеся данные не убеждают в том, что это всегда связано с различным латеральным распределением ауксина. В тех случаях, когда латеральное распределение ауксина и в самом деле играет важную роль (например, в черешках), мы не

Таблица 7.1

Латеральное распределение эндогенных ауксина (ИУК) и ксантоксина (в процентах от общего содержания на каждой стороне) у прямых (фототропически неиндуцированных), изгибающихся и закончивших ростовой изгиб гипокотилей подсолнечника *Helianthus annuus*¹

	Прямые гипокотили		Изгибающиеся гипокотили			Гипокотили, закончившие ростовой изгиб		
	левая сторона, %	правая сторона, %	освещенная сторона, %	теневая сторона, %	изгиб, град.	освещенная сторона, %	теневая сторона, %	изгиб, град.
ИУК ²	49,5	50,5	52,0	48,0	17	48,0	52,0	21
Ксантоксин ³	48,5	51,5	65,5	33,5	15,5	59,0	41,0	34,5

¹ По данным J. M. Franssen, J. Bruinsma, in *Tropic Responses of Plants* (eds.), J. Digby, R. D. Firn, Abstracts of Papers on Tropic Responses of Plants, p. 16, S.E.B. Conferens, York, 1979; J. Bruinsma et al., J. exper. Bot. 92, 411—418, 1975.

² Один эксперимент, включающий 55 растений.

³ Среднее двух отдельных экспериментов, в каждом из которых использовано приблизительно по 50 растений.

располагаем данными, свидетельствующими о том, что дифференциальный латеральный транспорт ауксина имеет к этому отношение.

Относительно высокие интенсивности излучения рассеянного синего света оказывают быстрое ингибирующее действие (латентный период менее 5 мин) на рост растяжением у зеленых стеблей. Величина ингибирующего эффекта синего света зависит от уровня излучения, но на продолжительность латентного периода уровень излучения не оказывает влияния. Эти особенности действия синего света на рост растяжением у неэтилированных растений логически привели к недавно высказанному предположению, что фототропизм, по-видимому, является результатом прямого ингибирующего действия синего света на рост клеток растяжением на той стороне органа, которая подвергалась освещению. Пигментная система (возможно, флавопротеид), обуславливающая эффекты синего света и явление фотоморфогенеза, индуцируемого световым излучением высокой энергии, вероятно, одна и та же (см. гл. 8). Фоторецептор синего света иногда называют *криптохромом*. Быстрота действия синего света наводит на мысль, что различия в транспорте гормонов не играют никакой роли в явлении фототропизма. Если окажется, что прямая реакция на синий свет лежит в основе фототропизма растений, то сходство этого механизма со значительно лучше установленным механизмом фототропизма у спорангиеносцев фикомицетов (с. 277) очевидно, и этот факт представляется крайне интересным.

7.7. ГРАВИТРОПИЗМ (ГЕОТРОПИЗМ)

Гравитропизмом называют ростовые движения, индуцируемые гравитацией или ускорением массы (например, центрифугированием). Поскольку этот тип ростовых движений вызывается не только земным притяжением, но и любым другим ускорением массы, традиционная приставка «гео» в настоящее время изменена на «грави». Рост органа по направлению к центру Земли (или в направлении вектора ускорения массы) называется *положительным гравитропизмом*, а в противоположную от центра сторону (или против вектора ускорения массы) — *отрицательным гравитропизмом*. Положительно и отрицательно гравитропные органы, такие, как стебель и корень, расположенные на главной оси растения параллельно направлению силы притяжения, могут быть названы *ортогравитропными*. Если ось органа лежит под прямым углом к направлению поля гравитации, то такой орган называют *диагравитропным* (например, корневища купены лекарственной, пырея ползучего и т. д. или столоны картофеля и земляники). Когда орган ориентирован под промежуточными углами (т. е. между 0 и 90° или между 90° и

180° от вертикального положения), он называется *плагигравитропным* (например, боковые ветви). Большинство главных корней являются положительно гравитропными. Корневища у мхов иногда бывают положительно гравитропными, но в большинстве случаев положительный гравитропизм не характерен для низших растений. Отрицательный гравитропизм проявляется у стеблей высших растений, у спорангиеносцев и спорофоров многих грибов и у листостебельных мхов. Если многие корневища и столоны диагравитропны, то боковые побеги и корни первого порядка, а также листья обычно плагигравитропны. Боковые побеги и корни более высокого порядка, как правило, характеризуются слабой гравитропической чувствительностью и их обычно называют *агравитропными*.

Движение растения из обычного вертикального положения в горизонтальное, возникающее в результате притяжения, встречает сопротивление тканей стебля и корня. Проявление гравитропической реакции выражается в ростовом изгибе, т. е. стебель изгибается и растет кверху, а корень изгибается и растет книзу. Это можно легко продемонстрировать на молодых проростках.

Гравитропизм побегов имеет много общего с фототропизмом; оба явления характеризуются: 1) направленной ростовой реакцией на направленный раздражитель; 2) одинаковыми латентными периодами; 3) изгибом по всей или большей части длины реагирующего органа в результате прекращения или замедления удлинения одной стороны и ускорения удлинения другой; 4) чувствительностью к раздражителю, присущей не только апикальной зоне. Правда, у корней чувствительность к гравитации полностью или в большей степени ограничивается апикальной зоной.

7.7.1. Восприятие гравитропического раздражения

Растения, реагирующие на направление гравитации, должны иметь особый механизм, воспринимающий гравитацию. Давно известно, что гравитропическая реакция представляет собой «пороговое» явление, т. е. гравитропический изгиб происходит лишь по достижении гравитропическим раздражителем определенного минимального уровня, характерного для данного органа. Количество раздражения равно силе гравитации, умноженной на время ее действия. При данной силе продолжительность действия раздражителя, которая необходима для проявления видимой реакции, называется *временем презентации*. Наличие порога предполагает, что восприятие раздражения включает движение свободно падающих тел, или *статолитов*, которые должны пройти определенное расстояние, прежде чем приведут в действие механизм геотропической реакции. При данной температуре

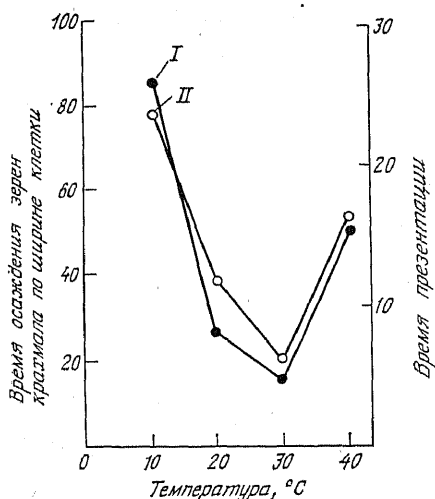


Рис. 7.14. Положительная корреляция, наблюдаемая между временем презентации (II) при гравитропизме стебля проростка *Lathyrus odoratus* и временем осаднения крахмальных зерен (I) при различных температурах. (L. Hawker, Ann. Bot., 47, 505—515, 1933.)

время презентации обратно пропорционально количеству приложенного гравитропического раздражения; иными словами, взаимозависимость соблюдается для гравитропического раздражителя так же, как и для фототропического.

Для идентификации предполагаемых статолитов были использованы методы математического анализа; результаты анализа показали, что клеточные включения, не превышающие по размерам митохондрии, в ответ на гравитацию могут двигаться в цитоплазме достаточно быстро с учетом известного времени презентации. Кинетика восприятия гравитропического раздражения сходна с кинетикой перемещения в клетках рас-

тения зерен крахмала, вызванного гравитацией (рис. 7.14). Изучение *статоцитов* (клеток, чувствительных к гравитации и содержащих статолиты) с помощью светового и электронного микроскопов показало, что в результате действия гравитации происходит осаднение зерен крахмала (рис. 7.15). Кроме того, осаждающиеся зерна крахмала окружены мембраной, как амилопласты (амилопласт — разновидность пластиды, содержащей два или несколько крахмальных зерен). Ткань, состоящая из статоцитов, называется *статенхима*. Переориентация статоцитов вызывает не только изменение положения амилопластов, но и другие цитологические изменения, в частности в распределении эндоплазматического ретикулума. Хотя функцию статолитов, особенно в тканях, которые не содержат амилопластов, могут выполнять и другие органеллы (у ризоида *Chara* функцию статолитов, по-видимому, выполняют кристаллы сульфата бария, рис. 7.16), по имеющимся данным, у большинства высших растений гравитропическая реакция вызывается осаднением амилопластов под влиянием гравитации. Следовательно, органы растений, содержащие мало крахмала (лишенные крахмала в результате естественных процессов или в результате обработки растворами цитокинина и гиббереллина или воздействия низкой

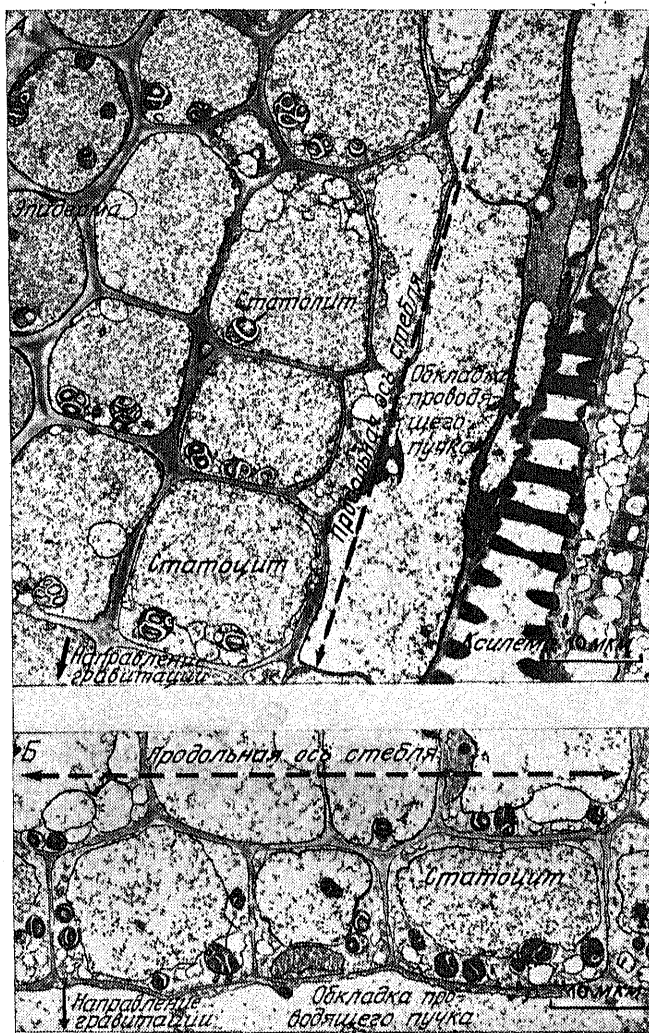


Рис. 7.15. Влияние гравитации на распределение амлопластов (статолитов) в статочитах основания листового влагалища *Echinochloa colonum*. (Фотографии любезно предоставлены д-ром Mary Parker, Кембридж.)

А. Продольный срез вертикального побега. Видно осаждение статолитов на базальных концах статочитов. Б. Продольный срез побега после 2-часового пребывания в горизонтальном положении (апикальные концы клеток слева).

Статолиты осели на ставшие теперь нижними боковые стенки статочитов.

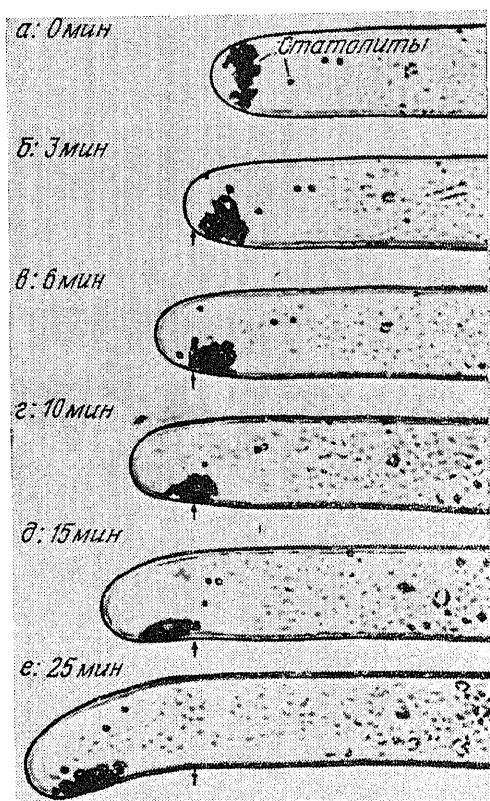


Рис. 7.16. Последовательные фотографии ризоида водоросли хары после изменения ориентации с вертикальной на горизонтальную. Осаждение статолитов (кристаллов сульфата бария) приводит к изгибу кончика ризоида. Стрелка на каждой микрофотографии показывает одну и ту же точку клеточной стенки. (Фотографии любезно предоставлены проф. A. Sievers и д-ром D. Volkmann. Encyclopedia of Plant Physiology N. S., vol. 7, eds. W. Haupt, M. E. Feinleb, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 567—572, 1979.)

температуры), требуют намного большее время презентации для проявления геотропической реакции.

Где располагаются статолиты (клетки, содержащие статолиты) в растениях? Вплоть до недавнего времени в основном считалось, что восприятие гравитации происходит только апикальными зонами coleoptилей, побегов и корней.

В случае геотропизма корней проростков для некоторых видов было установлено, что амилопласты, играющие наиболее важную роль в восприятии раздражения, находятся в клетках, расположенных в центральном цилиндре корневого чехлика. Если с помощью микроманипулятора удалить корневой чехлик,

то у большинства видов гравитропическая чувствительность утрачивается. Только корни, содержащие в апикальной зоне добавочные, способные к осаждению амилопласты или быстро образующие такие амилопласты после удаления корневого чехлика, сохраняют некоторую способность реагировать на гравитационный раздражитель после лишения их корневого чехлика.

Если в корне восприятие гравитации ограничивается лишь апикальной зоной, то, как сейчас уже достаточно ясно, стебель двудольного растения или колеоптиля способен воспринимать этот раздражитель по *всей* длине. У зрелых побегов злаков гравитропический изгиб происходит только в узлах. Эксперименты на изолированных узлах дикорастущих и культурных злаков показали, что как те, так и другие обладают способностью воспринимать направление действия гравитации и проявляют дифференциальный рост в пределах самого узла. Таким образом, во всех изученных типах структур побега нет продольного деления на зону восприятия раздражения и зону ответной реакции и, следовательно, гравитропизм побегов не включает механизм продольной передачи сигнала, как часто считалось в течение многих лет (иная ситуация наблюдается в корнях — см. ниже).

Однако апикальная зона стебля двудольного растения или колеоптиля является источником гормонов (в особенности ауксина), которые необходимы для растяжения клеток в зонах гравитропического изгиба. Таким образом, хотя стебель двудольного растения с только что удаленной верхушкой проявляет гравитропическую реакцию, это происходит потому, что он уже содержит достаточное количество ауксина, поступившего из отрезанной верхушки. Следовательно, апикальная зона побега или колеоптиля поставляет ауксин, необходимый для роста клеток в зоне гравитропической реакции. Правда, для некоторых типов побеговых структур не имеется данных о том, что *восприятие гравитации* ограничено апикальными зонами. Вопрос о том, связан ли гравитропизм с *латеральной асимметрией* в концентрации ауксина, будет рассмотрен ниже (с. 290).

Довольно хорошо установлено, что процесс восприятия гравитации включает осаждение статолитов, обычно амилопластов, но очень мало известно о биохимических и физиологических изменениях, вызываемых в статолитах перемещением оргanelл. Однако некоторые данные наводят на мысль, что чувствительность растений к гравитации связана с чувствительностью клеточных мембран к давлению. Большинство данных свидетельствуют о том, что мембраны эндоплазматического ретикула ($\oplus P$) играют важную роль в статенхиме корневого чехлика, а в статенхиме побега в качестве чувствительной мембраны, по-видимому, выступает плазмалемма. Полагают, что давление оказывают осаждающиеся статолиты (у высших растений обычно амилопласты). Схема эффекта расположения корня *Lepidium*

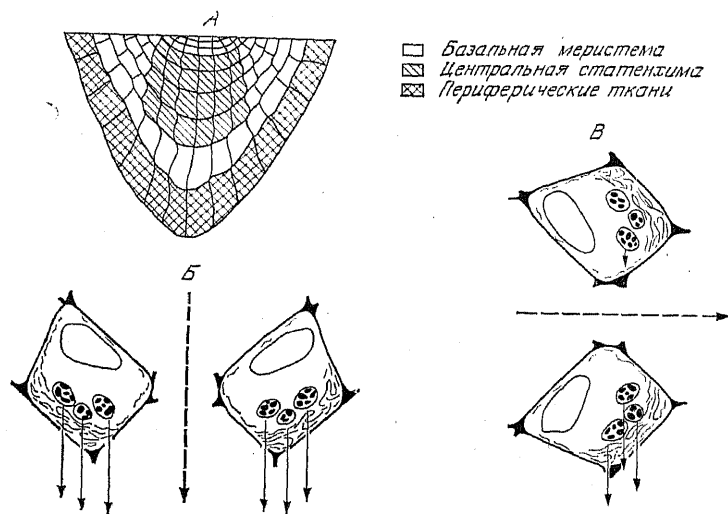


Рис. 7.17. Восприятие гравитропического раздражения корнями *Lepidium*. (По D. Volkmann, S. Sievers, Encyclopedia of Plant Physiology, N. S., vol. 7, eds. W. Haupt, M. E. Feinleb, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 573—600, 1979.)

А. Схема продольного среза корневого чехлика, показывающая центральный цилиндр, в клетках которого содержатся способные к осаждению амилопласты и который, по-видимому, служит статенхимой. Обратите внимание на расположение клеточных слоев. Б и В. Симметрично расположенные боковые статолиты при вертикальном (Б) и горизонтальном (В) положениях корней. Прерывистые линии со стрелками указывают направление к кончику корня. При вертикальном положении корня давление, оказываемое амилопластами на эндоплазматический ретикулум (который расположен главным образом на апикальных концах клеток), в боковых статолитах одинаковое (обозначено стрелками одинаковой длины), но при горизонтальной ориентации корня давление амилопластов на ЭР становится различным (стрелки неодинаковой длины).

в горизонтальном положении на статолиты показана на рис. 7.17. Из представленной на рисунке модели можно видеть, что поскольку ЭР-комплекс в этих корневых статолитах проявляет полярное распределение (ЭР находится главным образом в апикальном конце каждого статолита), поворачивание корня в горизонтальное положение выражается в уменьшении давления, оказываемого амилопластами на ЭР в клетках верхней стороны корня и увеличении давления в клетках его нижней стороны. Такие изменения давления в действительности должны происходить даже и без движения статолитов, хотя фактически осаждение амилопластов происходит за несколько минут. В статолитах других видов растений, и особенно в статенхиме побега, не всегда наблюдается полярность в распределении ЭР, но сходные изменения давления происходят в отношении плазма-

леммы и движение статолитов может также смещать мембраны ЭР в различных направлениях.

С помощью электронного микроскопа было продемонстрировано, что мембраны ЭР несомненно чувствительны к давлению, оказываемому амилопластами, поскольку отпечатки осаждавшихся амилопластов можно было четко видеть на поверхности мембран ЭР. Цистерны ЭР также сжимаются, и расстояния между соседними элементами в стопке сокращаются до минимума. Таким образом, существуют довольно убедительные данные о том, что ЭР-комплекс может функционировать как центр, чувствительный к гравитации.

Связь между влиянием, оказываемым осаджением статолитов на чувствительные к давлению мембраны, такие, как плазмалемма или мембраны ЭР в статочитах, и происходящими в результате этого изменениями направления роста представляет собой интересную проблему, к рассмотрению которой мы сейчас приступим. Хотя механизм восприятия гравитации у побегов и корней в основе своей одинаков, механизм перевода (передачи) возбуждения мембран в ростовую реакцию у побегов и корней, по-видимому, различен. Следовательно, передачу гравитационного раздражения у корней и побегов лучше рассматривать отдельно для каждого органа.

7.7.2. Передача гравитационного раздражения у побегов

В основных изученных типах органов побега (колеоптилях, гипокотилиях и междоузлиях) отрицательный гравитропический изгиб обычно возникает в результате замедления или полного прекращения роста растяжением всей верхней стороны и ускорения роста — нижней. У зрелых злаков междоузлия при вертикальном положении стебля не удлиняются вообще, но при горизонтальном расположении побега нижняя сторона начинает удлиняться, изгибаясь кверху, а клетки верхней стороны сдавливаются. Общие закономерности роста при гравитропизме корней более разнообразны и сложны и будут рассмотрены позднее (с. 293).

Латентный период для отрицательного гравитропизма составляет не менее 10 мин (т. е. изгиб кверху может начинаться спустя 10 мин после изменения ориентации органа из вертикальной в горизонтальную).

Как уже отмечалось ранее, восприятие гравитационного раздражения у стебля или колеоптиля происходит по всей длине ростовой зоны (т. е. чувствительность к гравитации не ограничивается апикальной зоной). Следовательно, нельзя полагаться на имеющиеся данные о существовании отдельно статенхимных клеток и клеток, проявляющих реакцию дифференциального роста. Так, возможно, что одни и те же клетки воспринимают

гравитационный раздражитель и реагируют на него изменением скоростей роста. Тем не менее нельзя игнорировать тот большой объем информации, которая многие годы интерпретировалась как подтверждение классической теории Холодного—Вента (с. 270). Применительно к гравитропизму эта теория гласит, что при вертикальном положении органа ауксин, синтезирующийся в апикальной зоне, перемещается безипетально и *симметрично* распределяется между сторонами, в результате чего субапикальные зоны растут прямо. Если же орган расположить горизонтально, то происходит латеральное перемещение ауксина, в результате чего он распределяется *асимметрично* между верхней и нижней сторонами. У побега, согласно теории Холодного—Вента, большая концентрация ауксина на нижней стороне вызывает ускорение роста растяжением этой стороны, что ведет к изгибу всего органа кверху.

Общепризнано, что латеральный (книзу) транспорт ауксина в наибольшей степени должен быть выражен в апикальной зоне coleoptили, хотя это никогда конкретно не высказывалось в теории Холодного—Вента. Эта идея привела к тому, что первые исследователи, например Долк (1930), концентрировали внимание на латеральном распределении эндогенного ауксина в верхушках coleoptилей. Долк помещал срезанные верхушки coleoptилей *Avena sativa* и *Zea mays* горизонтально и собирал ауксин, диффундировавший из верхней и нижней половинок, в агаровые блоки, прижатые к поверхности среза. Количество накопленного в агаровых блоках ауксина измерялось с помощью биотеста в так называемой «овсяной» пробе (рис. 3.1). Многие другие исследователи повторили эксперименты Долка и получили сходные результаты (рис. 7.18), которые согласовывались с гипотезой Холодного—Вента. Однако поскольку во всех этих экспериментах определение ауксина в верхнем и нижнем ага-

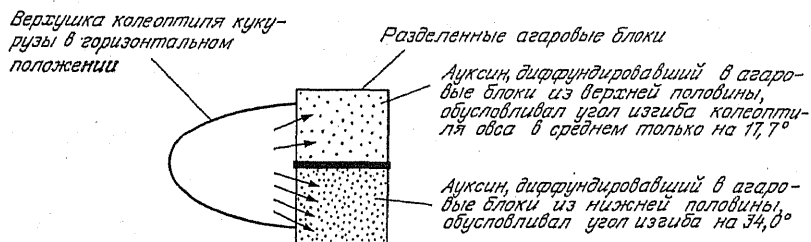


Рис. 7.18. При горизонтальном положении верхушки coleoptили из нижней половины поступает больше ауксина, чем из верхней. Количество ауксина, содержащегося в каждом агаровом блоке, измерялось по величине угла изгиба в биотесте по Венту (см. гл. 3). (B. Gillespie, W. R. Briggs, Plant Physiol., 36, 364—368, 1961.)

ровых блоках проводилось с помощью биотестов, не исключено, что данные отражали *суммарное* действие не только ауксина, но и ингибиторов роста. Таким образом, основываясь на результатах Долка, а также на результатах, представленных на рис. 7.18, можно с равным успехом прийти к выводу, что в верхний и нижний агаровые блоки поступают равные количества ауксина, но в *верхний* блок перемещается также ингибитор роста, поступающий из верхушки coleoptilya.

Следовательно, не существует твердых доказательств того, что у гравистимулируемых органов растения эндогенный ауксин перемещается латерально вниз. Более определенные данные в пользу теории Холодного—Вента были получены в экспериментах с перемещением радиоактивных ауксинов в coleoptilyax. Когда ^{14}C -ИУК или ^3H -ИУК обрабатывали срезанные апикальные концы отрезков coleoptiley или с помощью микропипетки вводили эти соединения в 0,2-миллиметровую апикальную зону интактного coleoptilya, было обнаружено, что горизонтальная ориентация вызывает перемещение радиоактивности в нижнем направлении и что латеральный транспорт ауксина зависит от дыхания. Другие эксперименты с мечеными ауксинами, проведенные на двудольных, дали менее убедительные данные о том, что латеральное перемещение ауксина вниз играет существенную роль в трансдукции процессов гравитропизма. В случае гипокотилей подсолнечника (*Helianthus annuus*) было отмечено незначительное перемещение ^{14}C -ИУК в нижнем направлении, но латерального перемещения ^{14}C -ИУК в горизонтально расположенных междоузлиях того же вида обнаружено не было. У гравитропически индуцированных междоузлий подсолнечника было выявлено асимметричное распределение гиббереллиноподобной активности с высокими уровнями на нижней, быстрее удлиняющейся стороне. Как и в случае с эндогенными ауксинами, эти результаты можно объяснить наличием препятствующего росту ингибитора, который перемещается кверху. Исследования, проведенные на отрезках стебля с применением радиоактивных гиббереллинов, показали, что асимметрия, обнаруженная для эндогенных гиббереллиноподобных соединений, не является результатом латерального перемещения гормона.

Справедливость теории Холодного—Вента может быть подвергнута сомнению по двум положениям:

1. Кинетики гравитропизма в связи с известной скоростью транспорта ауксина (приблизительно $1 \text{ см} \cdot \text{ч}^{-1}$) и лаг-периода при действии ауксина на рост клеток (обычно около 10 мин). Латентный период может, как уже было установлено, составлять не менее 10 мин. Естественно возникает вопрос, достаточно ли длительность этого периода как для развития латеральных различий в концентрациях ауксина, так и для начала ускорения роста клеток нижней стороны под действием ауксина?

2. Достаточно ли экспериментально измеренная разница в концентрации ауксина между верхними и нижними тканями для появления видимых различий в скоростях роста верхней и нижней сторон? Различия в латеральных концентрациях ауксина, обнаруженные у горизонтальных органов побега, обычно составляют 60—70% общего количества на нижней стороне и 40—30% — на верхней (т. е. отношение нижняя/верхняя составляет от 1,5 до 2,3). Сомнительно, чтобы только двукратное различие в концентрации ауксина могло обуславливать заметные различия в скоростях роста тканей верхней и нижней сторон (см. рис. 7.10).

В заключение следует сказать, что многие весьма существенные аргументы идут вразрез с устоявшейся гипотезой гравитропизма побегов Холодного—Вента. Что можно предложить взамен и что положить в основу будущего изучения механизма передачи при гравитропизме? В последние несколько лет Ферном и Дигби была сформулирована теория, в основе которой лежит идея, что наружные слои клеток (возможно, только эпидерма) стебля или coleoptily и воспринимают гравитацию, и являются местом ответной реакции. В сущности, эти исследователи полагают, что скорость растяжения стебля или coleoptily определяется скоростью роста наружных клеток, а скорость роста последних зависит от их ориентации относительно вектора гравитации. Мы располагаем экспериментальными данными, свидетельствующими о том, что наружные слои клеток играют важную роль в регулировании линейного роста побегов растяжением. Так, «очистка» (т. е. удаление эпидермального слоя клеток) отрезков стебля, как известно, приводит к увеличению скорости прямого растяжения, хотя у «очищенных» отрезков стебля не удается вызвать гравитропический изгиб, если их положить горизонтально. На основе этого наблюдения можно прийти к выводу, что наружные слои клеток обычно ограничивают скорость растяжения побега и присутствие их необходимо для возникновения гравитропической реакции. Ферн и Дигби высказали предположение, что периферические клетки стебля растут быстрее, когда их наружная поверхность обращена книзу, чем когда она обращена вверх. Для проверки этого предположения необходимо провести исследования *in vitro* на культурах таких поверхностных слоев клеток, измерив скорости их роста при различной ориентации. Необходимо также исследовать, содержатся ли в клетках этого типа органеллы, способные к осаждению и обладающие такими свойствами и поведением, чтобы их можно было рассматривать как статолиты. Если нет, то нужно установить, каким другим механизмом восприятия гравитационного раздражения они обладают.

7.7.3. Передача гравитропического раздражения у корней

Общий характер растяжения гравитропически индуцированных корней, по-видимому, варьирует в зависимости от вида и экспериментальных условий. Кроме того, в отличие от гравитропизма побегов, где определенный тип дифференциального роста устанавливается после восприятия гравитационного раздражения и этот же тип роста сохраняется в период ответной реакции, при гравитропизме корней типы дифференциального роста со временем изменяются. Например, вначале может наблюдаться замедление роста нижней стороны и ускорение роста верхней, но позднее скорость удлинения верхней стороны может снизиться до уровня даже более низкого, чем до помещения корня в горизонтальное положение. Было обнаружено, что у ряда видов изменение ориентации из вертикальной в горизонтальную вызывает снижение *общей* скорости роста растяжением. Вплоть до недавнего времени общие представления о механизме передачи раздражения при гравитропизме корней основывались на механизме, предложенном Холодным и Вентом в 20-х годах для фототропизма и гравитропизма колеоптилей. Иными словами, считалось, что ауксин, синтезирующийся или высвобождающийся в апексе корня, подлежал латеральному перемещению к нижней стороне органа. Поскольку удлинение корня подавляется значительно меньшими концентрациями ауксина, чем удлинение колеоптиля или стебля (гл. 5), представлялось, что концентрация ауксина на нижней стороне горизонтально помещенного корня увеличивается до супраоптимальной и, следовательно, подавляет рост чувствительных к ауксину тканей корня. Согласно этой теории, верхняя сторона горизонтально помещенного ортогравитропического корня должна содержать близкий к оптимальному уровень ауксина и поэтому расти быстрее, чем ингибируемая нижняя сторона, вследствие чего образуется положительный изгиб корня. Однако существующие разногласия по вопросу о возможной роли ауксина в росте корней растяжением и вопросу о том, синтезируется ли вообще ауксин в кончиках корней (гл. 5), означают, что гравитропизм корней нельзя объяснить действием ауксина. Тем не менее вопрос остается открытым, поскольку существуют экспериментальные данные, показывающие, что латеральное перемещение ауксина вниз может происходить у гравитропически индуцированных корней.

В последние несколько лет было установлено, что корневой чехлик является не только местом, воспринимающим гравитационное раздражение, но и, по-видимому, источником ингибиторов роста, в том числе абсцизовой кислоты, которая играет роль регулятора при удлинении корня. Чтобы установить это, было проведено большое число прямых и косвенных экспериментов. Так, например, множество экспериментов было прове-

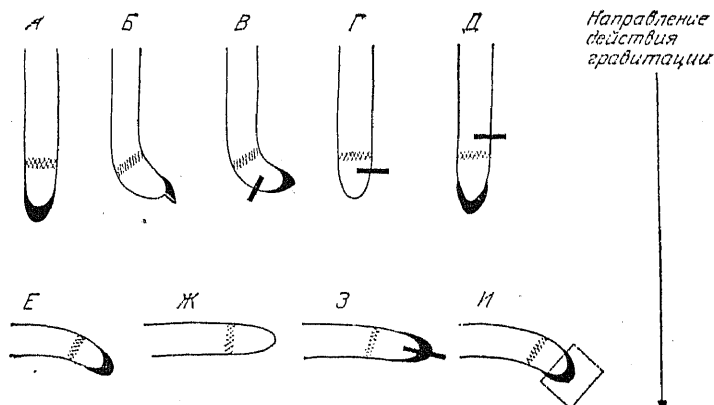


Рис. 7.19. Схематическое изображение некоторых экспериментов, показывающих, что корневой чехлик является источником ингибитора роста, включенного в механизм гравитропической реакции корней. (По М. В. Wilkins, *Current adv. Plant Sci.*, 3, 317—328, 1975.)

Корневой чехлик изображен черным цветом, а зона растяжения заштрихована. А. Интактный корень в естественном вертикальном положении. Б. Удаление половины корневого чехлика вызывает изгиб в сторону оставшейся половины чехлика независимо от направления действия гравитации. В. Установление стеклянного барьера посередине между корневым чехликом и зоной растяжения вызывает тот же эффект, что и удаление половины корневого чехлика. Г. Та же перегородка, но в отсутствие корневого чехлика не оказывает никакого влияния. Д. Барьер, установленный позади зоны растяжения, также не оказывает никакого влияния. Е. Изменение вертикальной ориентации интактного корня на горизонтальную вызывает развитие естественной положительной гравитропической реакции. Ж. Удаление корневого чехлика снимает гравитропический эффект независимо от горизонтальной ориентации (поскольку корневой чехлик является, по-видимому, как зоной гравиперцепции, так и источником регулирующих рост веществ). З. Горизонтально установленная в корневой чехлик и апекс стеклянная перегородка снимает или в значительной степени ослабляет гравитропическую реакцию при горизонтальной ориентации корня. И. Та же стеклянная пластинка, но установленная вертикально не препятствует развитию гравитропического изгиба.

дено несколькими группами исследователей на корнях *Zea mays*, у которых частично или полностью удаляли корневой чехлик или устанавливали стеклянные перегородки; полученные данные показали, что корневой чехлик оказывает ингибирующее действие на удлинение корня (рис. 7.19), а под влиянием гравитации это действие распределяется асимметрично, ингибируя рост нижней стороны горизонтально ориентированного корня. В другой работе с помощью прямых аналитических измерений в корневых чехликах было обнаружено присутствие нескольких ингибиторов роста, в том числе абсцизовой кислоты (АБК). В последние годы несколькими группами исследователей проводятся тщательные работы с целью установить влияние тран-

спорта и концентраций этих ингибиторов и эндогенной ИУК на положительный гравитропизм корней. Конечно, еще рано делать окончательные выводы, но уже имеются некоторые данные, свидетельствующие о том, что эндогенные ингибиторы роста образуются в корневом чехлике, откуда транспортируются базипетально и могут асимметрично распределяться в зоне растяжения во время гравитропической реакции. Недавние исследования показали, что у гравитропически индуцированных корней кукурузы концентрация АБК возрастает на верхней стороне (что, конечно, неожиданно, поскольку верхняя сторона растет быстрее, чем нижняя); в то же время другой, пока еще неидентифицированный ингибитор, образующийся в корневом чехлике, распространяется преимущественно в направлении медленно растущей стороны корня (табл. 7.2). Во всех этих экспериментах, а также и в других, проведенных разными авторами во время гравитропической реакции корней, большие концентрации ИУК были обнаружены на нижней стороне горизонтально расположенного корня (табл. 7.2). Однако этот факт еще не позволяет однозначно заключить, что такая латеральная асимметрия в концентрациях ауксина обуславливает торможение роста растяжением нижней стороны во время гравитропической реакции корня. Причины этого становятся очевидными при рассмотрении данных, представленных в табл. 7.2, полученных в экспериментах на одном из сортов кукурузы, корни которого проявляют положительный гравитропизм только после того, как их подвергнуть освещению. Из таблицы видно, что у корней,

Таблица 7.2

Латеральное распределение ИУК, абсцизовой кислоты и неидентифицированного ингибитора роста в горизонтально ориентированных корнях кукурузы (культivar *Golden Cross Bantam*) в зависимости от условий освещения¹

Условия освещения	Сторона корня	Содержание ИУК, мг·г ⁻¹ сырого веса	Отношение нижняя/верхняя	Содержание АБК, мг·г ⁻¹ сырого веса	Отношение нижняя/верхняя	Содержание неидентифицированного ингибитора (по ингибированию роста кукурузы), %	Отношение нижняя/верхняя
Темнота	Верхняя	13,9	2,9	35,7	1,0	27	0,7
	Нижняя	40,9		35,6		19	
Красный свет 5 мин	Верхняя	14,5	3,4	77,8	0,6	20	2,1
	Нижняя	49,0		48,4		42	

¹ По данным Т. Suzuki, N. Kondo, Т. Fujii, *Planta*, 145, 323—329, 1979.

находившихся в темноте и получавших свет, различий в латеральной асимметрии концентрации ИУК не обнаружено, тогда как неидентифицированный ингибитор в большей концентрации содержался на нижней стороне корней, подвергнутых освещению. Однако нельзя полностью исключить участие АБК в гравитропизме корней. Так, было обнаружено, что у другого сорта кукурузы, проявляющего реакцию гравитропизма корней после освещения, добавление АБК к интактным выращенным в полной темноте корням вызывало у них положительный гравитропический изгиб в ответ на гравитационный раздражитель.

Итак, появляется все больше данных в пользу представления о том, что корневой чехлик обладает способностью не только воспринимать направление действия гравитации (т. е. служит зоной гравиперцепции — см. также с. 287 и рис. 7.17), но и образовывать и транспортировать регуляторы роста таким образом, чтобы контролировать направление роста корня. Дальнейшие исследования должны быть направлены на установление химической природы важнейших регуляторов роста, синтезирующихся в корневом чехлике.

7.7.4. Характер поведения неосевых органов растения

Мы рассмотрели физиологию ортогравитропизма осевых органов — побегов и корней. Однако, как было указано во введении к данной теме (с. 282), многие органы растения проявляют другие типы гравитропических реакций. Механизм, обуславливающий горизонтальный рост корневищ и столонов (диагравитропизм) на постоянной глубине под поверхностью почвы, экспериментально почти не исследован, поэтому здесь рассматриваться не будет. В сущности, ничего не известно и о способности данных органов изменять в процессе развития характер гравитропической реакции с отрицательной на положительную и наоборот. Примерами таких изменений могут служить ножки цветка и плода в период между стадией цветочной почки и стадией зрелого плода (например, у *Papaver*, *Fritillaria* и *Tussilago*).

На характер гравитропической реакции любого органа могут оказывать влияние другие части растения. Хорошим примером служит влияние апикальной почки главного ортогравитропического побега на ориентацию плагиогравитропных боковых органов, таких, как листья и боковые побеги. Удаление апикальной почки главной оси приводит к гипонастическим (направленным вверх) движениям как листьев, так и ветвей (см. также с. 260—263). При этом одна или несколько боковых ветвей обычно становятся ортогравитропическими или растут вертикально вверх. Таким образом, совершенно очевидно, что пла-

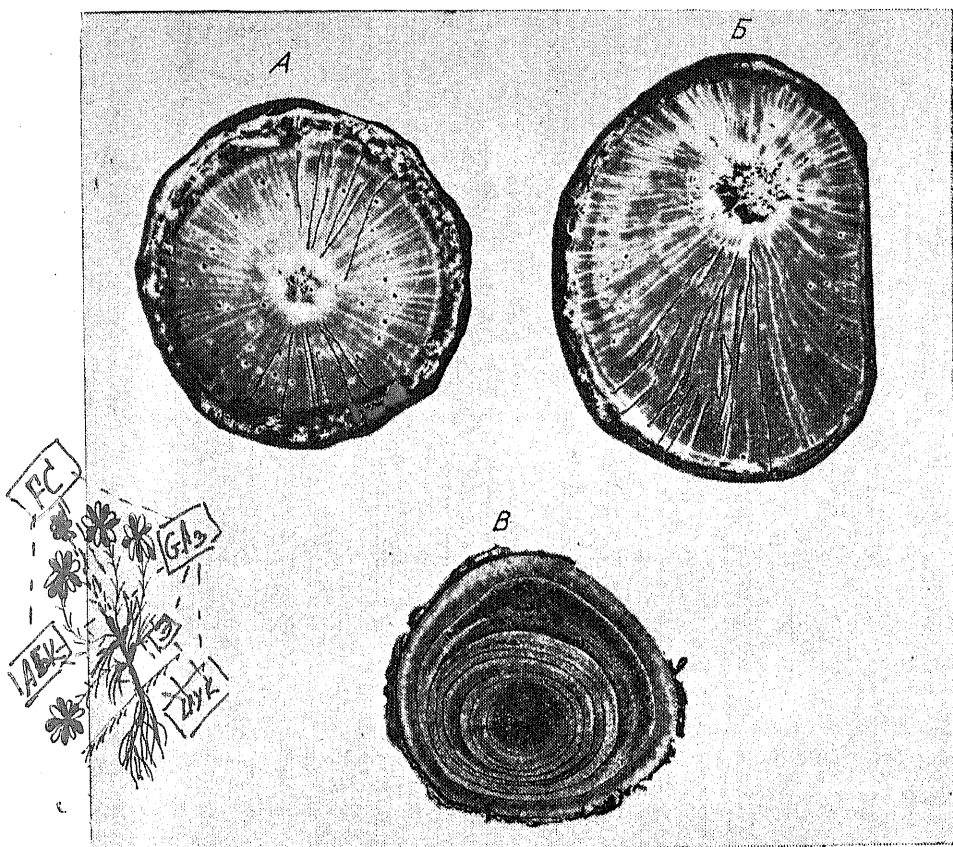


Рис. 7.20. Формирование древесины в ответ на действие гравитационного раздражителя. (Фотографии любезно предоставлены д-ром G. Scurfield, Science, 179 (4074), 647—755, 1973.)

Поперечные спилы стволов сосны (*Pinus radiata*). А. Контроль (вертикальное положение). Б. Спустя месяц после нахождения в горизонтальном положении. Реакция выражается в формировании на нижней стороне «сдавленной» древесины. В. Поперечный спил ствола покрытосеменного растения (*Eucalyptus geniculocalyx*), выдержанного в горизонтальном положении в течение 2 лет. На верхней стороне формируется «растянутая» древесина.

гиогравитропная реакция боковых органов по крайней мере частично детерминирована коррелятивным влиянием главной апикальной зоны побега. Экзогенный ауксин может заменять удаленную апикальную почку в поддержании плагиогравитропизма у боковых ветвей (с. 260—263). Еще одним примером влияния апикальной зоны побега и гормонов роста служат эффекты ауксина, гиббереллина и цитокинина на ориентацию и раз-

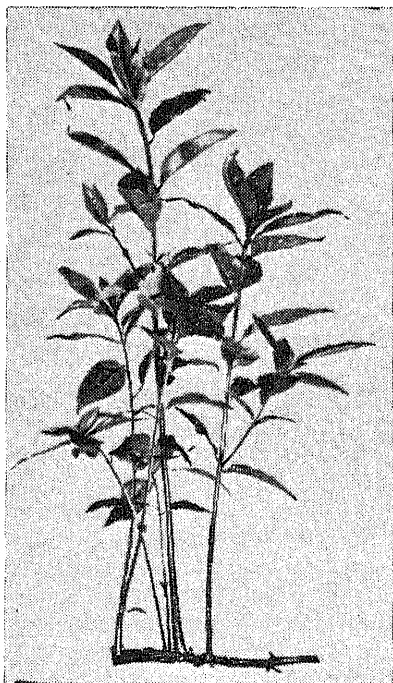


Рис. 7.21. Гравиморфизм почек горизонтально расположенного стебля древесного растения. Почки верхней стороны тронулись в рост и образовали побеги, тогда как на нижней стороне рост почек подавлен. (Фотография любезно предоставлена д-ром G. Scurfield.)

витие столонов у таких растений, как *Solanum andigena* (с. 211—212 и рис. 5.29).

7.8. ГРАВИМОРФИЗМ

Многие важные аспекты влияния гравитации на развитие растений объединены в понятие гравиморфизм. Помимо термина гравитропизм для обозначения влияний, которые может оказывать гравитация на морфогенез или развитие растений, используется термин гравиморфизм. Ответное формирование древесины у плагногравитропических ветвей деревьев и кустарников — характерный пример проявления гравиморфизма (рис. 7.20). В качестве других примеров можно указать четко выраженную тенденцию латеральных почек трогаться в рост только на верхней стороне горизонтально расположенных или плагногравитропических побегов, при этом рост почек нижней стороны подавляется (рис. 7.21), а также заложение генеративных почек на горизонтально расположен-

ных ветвях у плодовых и других деревьев. Физиологические основы гравиморфизма получили некоторое освещение, но пока еще невозможно представить ясную картину действующих в этих случаях механизмов.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Audus L. J., 1973. Plant Growth Substances, vol. 1, Hill Ltd., London.
 Darwin C., 1880. The Power of Movement in Plants, J. Murray, London.
 Hall A. B., Firn R. D., Digby J. (1980). Auxins and shoot tropisms — A tenuous connection? Journal of Biological Education, 14, 195—199.
 Letham D. S., Goodwin P. B., Higgins T. J. V. (eds.), 1978. Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise Vols. I and II, Elsevier-North Holland, Amsterdam.

- Wilkins M. B. (ed.), 1969. *Physiology of Plant Growth and Development*, McGraw-Hill, London.
- Wilkins M. B., 1976. Gravity-sensing guidance systems in plants, *Sci. Prog.*, Oxf., 63, 187—217.

Специальная литература

- Audus L. J., 1969. Geotropism. In: M. B. Wilkins (ed.), *The Physiology of Plant Growth and Development*, McGraw-Hill, London, pp. 205—242.
- Audus L. J., 1971. Linkage between direction and the mechanisms establishing differential growth factor concentrations. In: S. A. Gordon and M. J. Cohen (eds.), *Proc. Symp. on Gravity and the Organism*, Tuxedo, New York, University of Chicago Press, Chicago, pp. 137—150.
- Audus L. J., 1975. Geotropism in roots. In: *The Development and Function of Roots*, (ed. J. Torrey and D. J. Clarkson), Academic Press, London, pp. 327—363.
- Audus L. J. (1977). The mechanism of the perception of gravity by plants, *Symposia Soc., Exp. Biol.*, 31, 197—227.
- Curry G. M., 1969. Phototropism. In: M. B. Wilkins (ed.), *The Physiology of Plant Growth Development*, McGraw-Hill, London, pp. 243—273.
- Dennison D. S. (1979). Phototropism In: W. Haupt, M. E. Feinleb (eds.), *Physiology of Movements, Encyclopedia of Plant Physiology New Series*, vol. 7, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg, pp. 506—566.
- Digby J., Firn R. D. (1976). A critical assessment of the Cholodny — Went theory of shoot geotropism, *Current Advances in Plant Science*, 25.
- Firn R. D., Digby J. (1980). The establishment of tropic curvatures in plants, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31, 131—148.
- Galston A. W. (1974). Plant photobiology in the last half-century, *Plant Physiol.*, 51, 427—436.
- Johnson A., Circumnutation. In: W. Haupt and M. E. Feinleb (eds.), *Physiology of Movements, Encyclopedia of Plant Physiology New Series*, vol. 7, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg, pp. 627—646.
- Juniper B. E., 1972. Mechanisms of perception and patterns of organisation in root caps. In: M. M. Miller and C. C. Kuchnett (eds.), *The Dynamics of Meristem Cell Populations*, Plenum, New York, pp. 119—131.
- Juniper B. E. (1976). Geotropism, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 27, 385—406.
- Kang B. G., 1979. Epinasty. In: W. Haupt and M. E. Feinleb (eds.), *Physiology of Movements, Encyclopedia of Plant Physiology New Series*, vol. 7, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg, pp. 647—667.
- Reinhold L. (1978). Phytohormones and the orientation of growth. In: D. S. Lettman, P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins (eds.), *Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise*, vol. II Elsevier-North, Holland, Amsterdam, pp. 251—289.
- Satter R. L. (1979). Leaf movements and tendril curling. In: W. Haupt and M. E. Feinleb (eds.), *Physiology of Movements, Encyclopedia of Plant Physiology New Series*, vol. 7, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg, pp. 442—484.
- Scurfield G. (1973). Reaction wood: Its structure and function, *Science*, 179, 647—655.
- Shropshire W., 1979. Jr. Stimulus perception. In: W. Haupt and M. E. Feinleb (eds.), *Physiology of Movements Encyclopedia of Plant Physiology New Series*, vol. 7, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg, pp. 10—41.
- Seivers A., Volkmann D. (1979). Gravitropism in single cells. In: W. Haupt and M. E. Feinleb (eds.), *Physiology of Movements, Encyclopedia of Plant Physiology New Series*, vol. 7, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg, pp. 567—572.
- Torrey J. G. (1976). Root hormones and plant growth, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 27, 435—459.

- Volkmann D., Sievers A.* (1979). Graviperception in multi-cellular organs. In: W. Haupt and M. E. Feinleb (eds.), *Physiology of Movements, Encyclopedia of Plant Physiology New Series*, vol. 7, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg, pp. 573—600.
- Wilkins M. B.* (1975). The role of the root cap in root geotropism, *Current Advances in Plant Science*, 6 (3), 317—328.
- Wilkins M. B.* (1977). Gravity and light-sensing guidance systems in primary roots and shoots, *Symposia Soc. Exp. Biol.*, 31, 275—335.
- Wilkins M. B.* (1979). Growth-control mechanisms in gravitropism. In: W. Haupt and M. E. Feinleb (eds.), *Physiology of Movements, Encyclopedia of Plant Physiology New Series*, vol. 7, Springer-Verlag, Berlin — Heidelberg, pp. 601—626.
- Wilson B. F., Archer R. R.* (1977). Reaction wood: induction and mechanical action, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 28, 24—43.

Глава 8

Фотоморфогенез

8.1. ВВЕДЕНИЕ

В предыдущей главе мы рассмотрели реакции растений на действие направленных световых и гравитационных раздражителей. Однако помимо фототропизма растения проявляют и другие типы ответных реакций на световые сигналы. В последующей главе мы рассмотрим влияние на растения сезонных изменений продолжительности дня (*фотопериодизм*). В этом типе реакций растения, по-видимому, проявляют способность к измерению времени, что дает им возможность обнаруживать сезонные изменения продолжительности дня и ночи. Кроме фототропизма и фотопериодизма существуют реакции, в которых раздражитель не является ни направленным, ни периодическим. Такие реакции объединены под общим термином *фотоморфогенез*, который был определен как «стратегия адаптации развития растений, растущих на свету». Как мы увидим далее, фотоморфогенез включает ряд разнообразных явлений, которые регулируются специфическими фоторецепторами, образующими систему *фитохрома*.

8.2. ЯВЛЕНИЕ КРАСНЫЙ/ДАЛЬНИЙ КРАСНЫЙ

Значительный вклад в наше понимание фотоморфогенеза внесли Х. Бортвик и С. Хендрикс (министерство сельского хозяйства США), в течение многих лет исследовавшие реакции прорастания семян светочувствительных сортов салата.

Для этого типа семян характерна низкая всхожесть в темноте даже при температуре 25 °C, но если их подвергнуть освещению в течение непродолжительного периода, то семена хорошо прорастают. Подвергая семена действию света с различными длинами волн, Бортвик и Хендрикс показали, что наиболее эффективной для стимуляции прорастания является красная область (максимальная эффективность при 660 нм) с дополнительным пиком в синей. Дальний красный свет (максимум при 730 нм) не способствовал прорастанию, и даже, как было установлено в ранних работах, ингибировал прорастание (рис. 11.4). Исследуя влияние красного (К) и дальнего красного (ДК) света путем попеременного облучения семян, Бортвик и Хендрикс сделали важное открытие, что влияния К и ДК взаимобратимы и что прорастание зависит от природы света, которым се-

Таблица 8.1

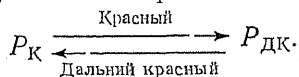
Регуляция прорастания семян салата красным и дальним красным светом¹

Облучение	Прорастание, %
К	70
К/ДК	6
К/ДК/К	74
К/ДК/К/ДК	6
К/ДК/К/ДК/К	76
К/ДК/К/ДК/К/ДК	7
К/ДК/К/ДК/К/ДК/К	81
К/ДК/К/ДК/К/ДК/К/ДК	7

¹ Из работы Borthwick et al., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 38, 662, 1952.

мена были облучены последний раз (табл. 8.1), т. е. каждое последующее облучение снимало эффект предыдущего.

Теперь известно, что если особая область спектра вызывает специфический биологический эффект, то ткани организма должны содержать фоторецептор (или «пигмент»), который избирательно поглощает в этой области. Следовательно, мы можем предположить наличие двух фоторецепторов в тканях семян салата, один из которых избирательно поглощает в красной области, а другой — в дальней красной. Однако Бортвик и Хендрикс высказали смелую мысль, что, по сути дела, имеется только один фоторецептор, который существует в двух альтернативных формах, R_K и R_{DK} , каждая из которых может превращаться в другую. Эту гипотезу можно выразить следующим уравнением:



Ясно, что эта гипотеза была основана на простых экспериментах по влиянию света на прорастание семян салата-латука. В течение нескольких лет схема оставалась чисто гипотетической, но позднее члены той же группы сконструировали специальный спектрофотометр на две длины волны, с помощью которого можно было обнаруживать малейшие изменения спектров поглощения тканей этиолированных растений при 660 и 730 нм. Использование именно этиолированных растений объясняется тем, что присутствие хлорофилла маскирует поглощение других пигментов в красной области. Измеряя с помощью прибора различия в поглощении тканей при 660 и 730 нм в процессе быстро чередующихся облучений, исследователи установили, что после

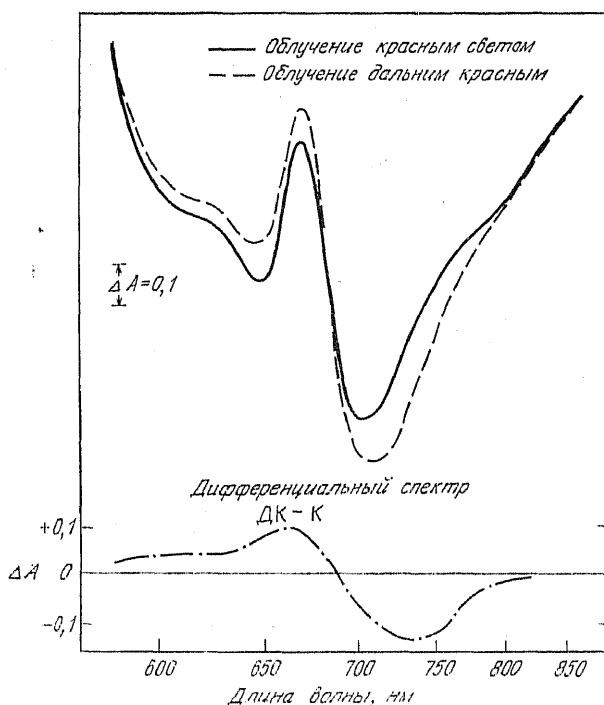


Рис. 8.1. «Дифференциальный спектр» фитохрома, показывающий поглощение этиолированных тканей кукурузы после насыщающего действия красного и дальнего красного (вверху), а также разница в поглощении (внизу). (По W. L. Butler, K. H. Norris, H. W. Siegelman, S. B. Hendriks, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 45, 1703, 1959.)

освещения тканей выращенных в темноте растений красным светом, поглощение менялось незначительно, следовательно, в большей степени растения поглощали при 730 нм (рис. 8.1), а при последующем освещении ДК происходили обратные изменения. Таким образом, теоретически предполагаемые изменения действительно имели место. В дальнейших исследованиях аналогичные изменения были продемонстрированы уже на бесклеточных экстрактах из этиолированных тканей. Даже невооруженным глазом можно было видеть изменение цвета экстракта после попеременного освещения К- и ДК-светом. Такие изменения поглотительных свойств были использованы для обнаружения присутствия фоторецептора (фоторецепторов) в процессе дальнейшей очистки, и в конечном итоге оказалось возможным выделить белок, спектр поглощения которого попеременно менялся под действием облучения К- и ДК-светом в точ-

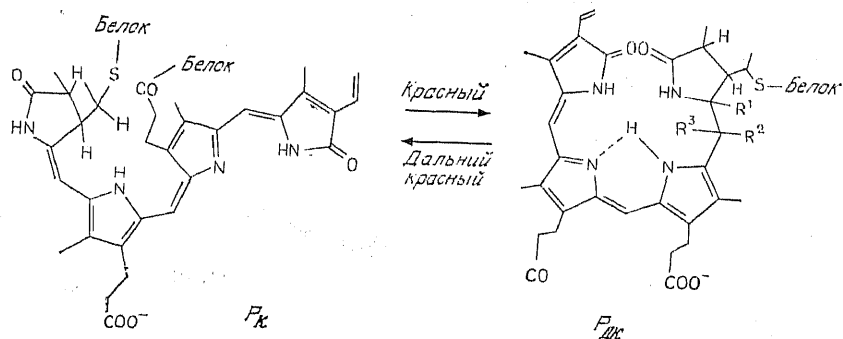


Рис. 8.2. Предполагаемые изменения хромофора фитохрома* в процессе фотоконверсии. (Любезно предоставлен проф. W. Rüdiger и проф. H. Scheer.)

ном соответствии с предположением Бортвика и Хендрикса, назвавшими это соединение фитохромом.

Впоследствии фитохром был выделен в совершенно чистом виде. Его белковая часть имеет молекулярный вес 120 000, а небелковая светопоглощающая часть (хромофор) представляет собой тетрапиррольное соединение, близкое к фикоцианинам сине-зеленых водорослей (рис. 8.2). Природа внутримолекуляр-

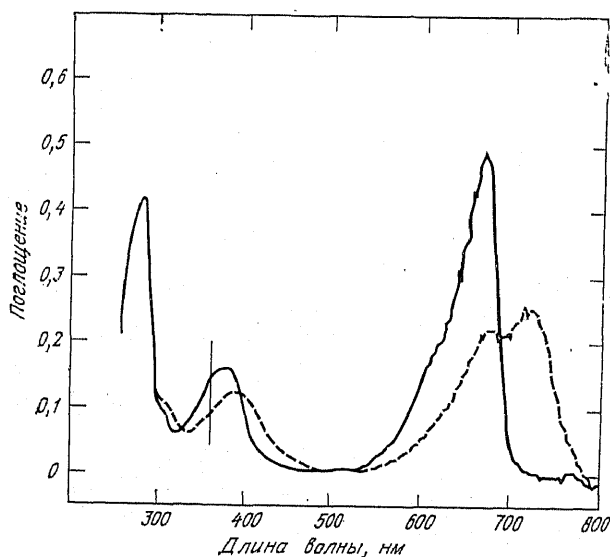


Рис. 8.3. Спектры поглощения раствора фитохрома овса в результате освещения красным и дальним красным светом, дающего P_{dk} -форму (штриховая линия) и P_k -форму (сплошная линия). (По Н. W. Siegelman W. L. Butler, Ann. Rev. Plant Physiol., 16, 383, 1965.)

ных изменений, которым подвергается хромофор при освещении красным или дальним красным светом, все еще не ясно; одно из предположений проиллюстрировано на рис. 8.2. Есть также некоторые данные, что белковая часть молекулы может подвергаться конформационным изменениям в процессе фотоконверсии. Спектры поглощения P_K и P_{DK} приведены на рис. 8.3.

8.3. РЕАКЦИИ, КОНТРОЛИРУЕМЫЕ ФИТОХРОМОМ

С момента открытия взаимно противоположного действия К и ДК на прорастание семян салата-латука сходные эффекты были продемонстрированы на примере самых разнообразных реакций растений, а также во всех основных группах растений, начиная от зеленых водорослей и кончая цветковыми (табл. 8.2). К числу таких реакций относятся прорастание спор, распрямление эпикотиля, рост растяжением листьев и междоузлий, заложение корня, а также множество реакций на субклеточном и молекулярном уровнях, таких, как движение хлоропластов, синтез ферментов и изменение проницаемости мембран. Во всех этих случаях К и ДК оказывали противоположные эффекты со сходными спектрами действия (рис. 8.4), причем наблюдалась взаимопревращаемость $K \rightarrow DK$. Следовательно,

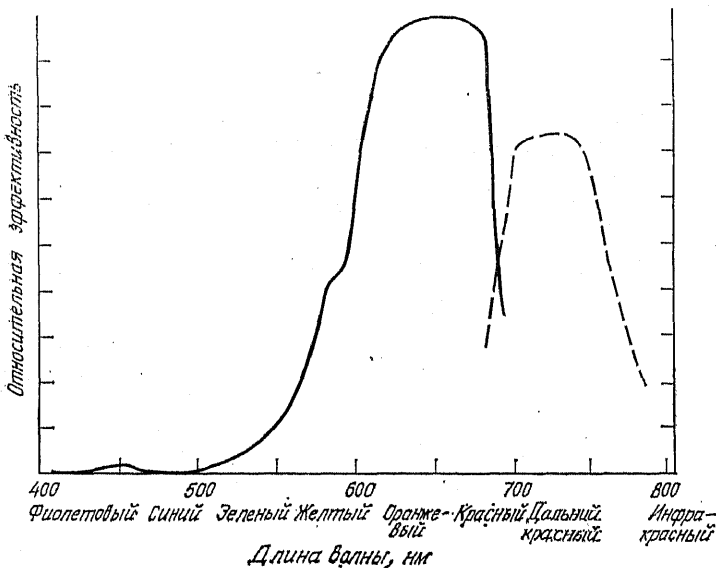


Рис. 8.4. Спектры действия регулируемых фитохромом физиологических реакций, возникающих на красный и дальний красный свет. Эффект красного света — сплошная линия, эффект дальнего красного — штриховая линия. (По F. B. Salisbury, Endeavour, 24, 78—80, 1965.)

Таблица 8.2

Некоторые реакции, контролируемые фитохромом

<i>Водоросли, мохообразные и папоротникообразные</i>	<i>Покрытосеменные</i>
Прорастание спор	Прорастание семян
Движение хлоропласта	Образование изгиба гипокотилия
Рост и дифференцировка протономы	Растяжение междоузлия
	Заложение примордия корня
	Заложение и рост листа
<i>Голосеменные</i>	Движение листочков
Прорастание семян	Возникновение электрического потен- циала
Образование изгиба гипокотилия	Проницаемость мембран
Растяжение междоузлия	Фототропическая чувствительность
Покой почек	Геотропическая чувствительность
	Синтез антоциана

К/ДК-эффекты столь характерны для фитохрома, что если эти эффекты наблюдаются в любой данной биологической реакции, то можно считать, что последняя включает фитохром. Именно эти разнообразные аспекты роста и развития, находящиеся под контролем фитохрома, называются *фотоморфогенезом*.

Совершенно очевидно, что фитохромная регуляция проявляется не только в особых явлениях, таких, как светочувствительность семян, но может распространяться и на более общие процессы, например на разворачивание листа или растяжение стебля при нормальном развитии зеленого побега. Каждому знаком внешний вид этиолированных, выращенных в полной темноте, побегов. Симптомы этиоляции могут быть частично сняты довольно короткими периодами (по 5 мин) ежедневного освещения красным светом, а эффект К может быть нейтрализован ДК, что указывает на фитохромную регуляцию (рис. 8.5). Однако развитие хлорофилла требует более длительных периодов освещения, и для полного развития того, что мы называем «нормальным» зеленым побегом, требуются довольно высокие уровни энергии (с. 314).

8.4. ВЫЯВЛЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ФИТОХРОМА IN VIVO

Обнаружение и измерение фитохрома в тканях растения основано на использовании спектрофотометрических методов, с помощью которых определяют различия в спектрах поглощения при 660 и 730 нм после освещения К и ДК; эти же методы служат для выделения фитохрома. С этой целью ткань вначале облучают красным светом, чтобы перевести фитохром в форму R_{dk} , и определяют разницу ΔA_K между поглощением при 660 и 730 нм. Затем пигмент переводят в форму R_K облучением

ДК-светом и определяют разницу $\Delta A_{\text{ДК}}$ между поглощением при этих двух длинах волн.

Разница между двумя измерениями (рис. 8.6) будет отражать общее количество содержащегося фитохрома, т. е.

$$\Delta(\Delta A) = \Delta A_{\text{ДК}} - \Delta A_{\text{К}},$$

где ΔA — разность в поглощении при 660 и 730 нм.

В этиолированных тканях содержится много фитохрома, причем наибольшие концентрации обнаружены в меристематических тканях, в том числе в кончиках побегов и корней, а также в камбиальных тканях. Содержание фитохрома в зеленых тканях недостаточно для спектрофотометрического измерения, однако в экстрактах из листьев ряда видов были обнаружены его небольшие количества.



Рис. 8.5. Регуляция фитохромом развития побега фасоли (*Phaseolus vulgaris*). (По R. J. Down, Plant Physiol., 30, 468 1955.)

А. Рост в непрерывной темноте. Б. Двухминутное освещение красным светом. В. Двухминутное освещение красным и пятиминутное — дальним красным. Г. Пятиминутное освещение дальним красным.

8.5. ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ ФИТОХРОМА

Были сделаны попытки установить местоположение фитохрома в клетке. Наиболее прямой подход состоит в использовании иммуоцитохимических методик. Для этого сначала получают кроличьи антитела против чистого фитохрома и обрабатывают ими срезы растительных тканей. Молекулы кроличьих антител взаимодействуют с молекулами фитохрома, находящегося в клетке. Затем срез обрабатывают бараньей антисывороткой к кроличьим антителам, что приводит к образованию кроличьего антипероксидазно-пероксидазного комплекса, так что каждая молекула фитохрома «метится» ферментом пероксидазой, локализацию которого можно определить гистохимическими методами (рис. 8.7). Таким путем было установлено, что фитохром в форме $P_{\text{К}}$ не имеет строгой локализации в клетке и может находиться в митохондриях и пластидах, а также в цитоплазме, но не в ядрах или вакуолях. Однако, перейдя в форму $P_{\text{ДК}}$ в

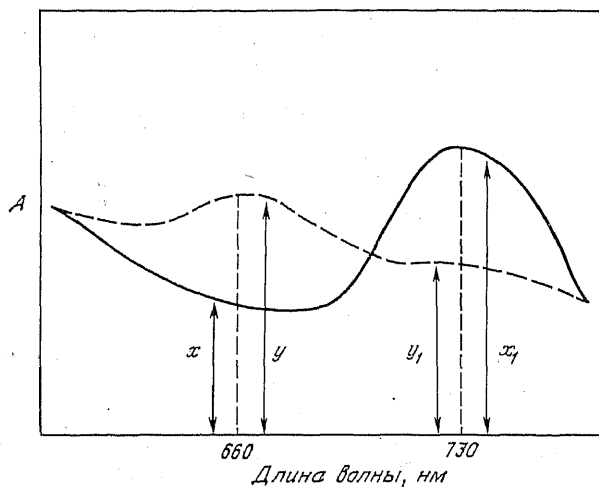


Рис. 8.6. Схема изменения поглощения, измеренного при количественном анализе фитохрома. (R. E. Kendrick, B. Frankland, *Phytochrome and Plant Growth*, Edward Arnold, London, 1976.)

Примечание: $\Delta_k = x - x_1$ (после красного), $\Delta_{dk} = y - y_1$ (после дальнего красного). Сплошная линия — красный, прерывистая — дальний красный.

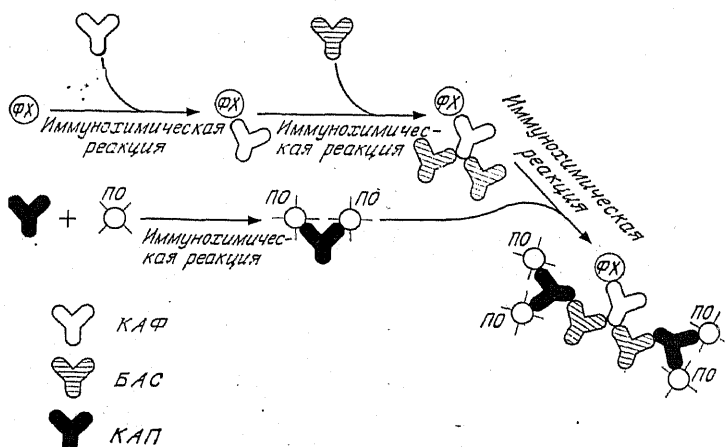


Рис. 8.7. Двойной непрямого метода выявления антигена (см. текст). (L. H. Pratt, R. A. Coleman, J. M. Mackenzie, *Light and Plant Development*, ed. H. Smith, Butterworths, London, 1976.)

ФХ — фитохром; ПО — пероксидаза; КАФ — кроличья антисыворотка к фитохрому; БАС — баранья антисыворотка к иммуноглобулину кролика; КАП — кроличья антитела к пероксидазе.

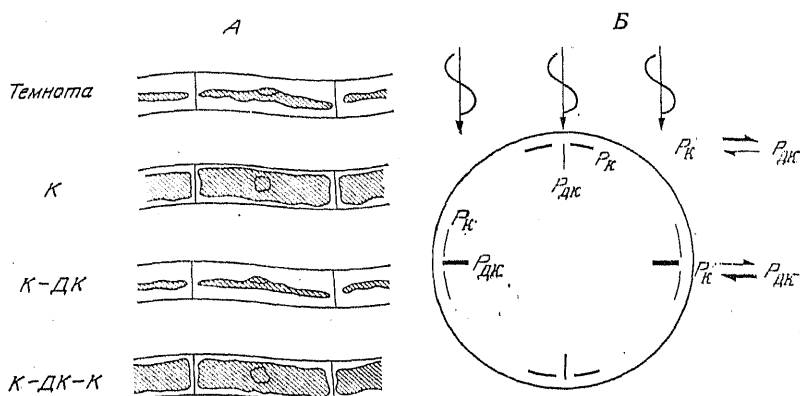


Рис. 8.8. А. Изменения ориентации хлоропласта мужоции при действии красного (К) и дальнего красного (ДК) света. Самый верхний рисунок — ориентация в профиль. Б. Поглощение поляризованного света молекулами фитохрома, меняющими дихроическую ориентацию с конверсией $P_K \rightarrow P_{DK}$. Поперечный срез мужоции, где вектор поглощения P_K расположен параллельно поверхности клетки, а вектор поглощения P_{DK} — перпендикулярно. Молекулы, находящиеся в благоприятном положении для поглощения поляризованного света, выделены жирными линиями. Изменение фотостационарного состояния в правую или левую сторону обозначено жирными стрелками. (Электрический вектор располагается под прямым углом к направлению поляризованного света, что показано синусоидальными кривыми вверх.) (W. Haupt, *Phytochrome*, eds. K. Mitrakos, K. Shropshire, Academic Press, London, 1972.)

результате облучения К-светом, фитохром быстро локализуется в определенных участках, которые пока еще не установлены.

Другой подход к проблеме локализации фитохрома в клетке был использован при изучении движения хлоропластов у нитчатой зеленой водоросли мужоции (*Mougeotia*). Каждая клетка этой водоросли содержит единственный пластинковидный хлоропласт, который при высокой интенсивности света поворачивается краем к падающему лучу, а при низкой интенсивности располагается под прямым углом к нему. Применяя микролучи К- и ДК-света, исследователи установили, что движения хлоропласта регулируются фитохромом, и реакция возникает лишь при освещении наружных слоев цитоплазмы. Кроме того, при использовании микролучей поляризованного К- и ДК-света было обнаружено, что К-свет эффективен только тогда, когда плоскость электрического вектора *параллельна* поверхности клетки, а ДК — когда *перпендикулярна* (рис. 8.8). Эти данные показывают, что молекулы фитохрома располагаются строго упорядоченно на поверхности клетки или вблизи поверхности, а во время фотоконверсии происходит изменение ориентации молекул (рис. 8.9). Ниже мы рассмотрим другие данные, согласно которым фитохром влияет на проницаемость клетки, действуя, по видимому, на клеточную мембрану.

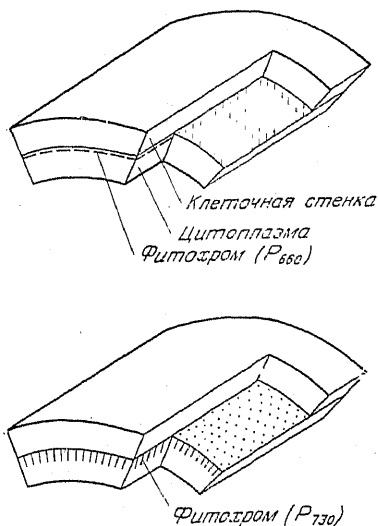


Рис. 8.9. Предполагаемая модель ориентации молекул фитохрома в плазматической мембране. (W. Haupt, *Phytochrome*, eds. K. Mitrakos, K. Shropshire, Academic Press, London, 1972.)

8.6. ФОТОКОНВЕРСИЯ ФИТОХРОМА В КЛЕТКЕ

Как известно, фитохром может быстро переходить из одной формы в другую под действием К- и ДК-света. Когда явление К/ДК-превращения было только открыто, полагали, что после конверсии фитохрома P_K в форму P_{DK} в результате освещения красным светом реверсия P_{DK} в P_K в темноте может происходить спонтанно без освещения ДК-светом. Однако такая «темновая реверсия» наблюдалась лишь у некоторых двудольных (например, у цветной капусты), а у однодольных пока еще не обнаружена. Тем не менее в большинстве тканей растения уровень P_{DK} обычно довольно быстро снижается, а следовательно, и общее содержание фитохрома (P) в тканях также падает. Это сниже-

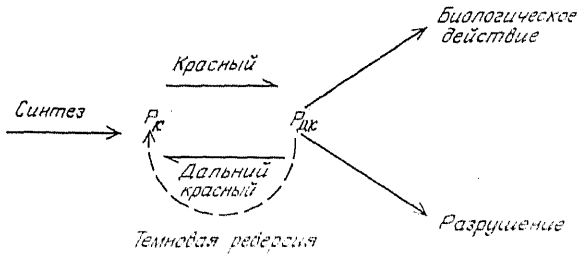
ние P_{DK} может быть остановлено освещением ДК, т. е. конверсией в P_K . Таким образом, если P_K относительно стабилен, то P_{DK} очень неустойчив и довольно быстро разрушается *in vivo*. Как происходит такое разрушение P_{DK} , неясно, но несомненно, что P_{DK} является биологически активной формой и должен быть вовлечен в инициацию цепи процессов, которые в конечном итоге выражаются в наблюдаемой биологической реакции.

В большинстве экспериментов, включающих К/ДК-превращения, освещение ДК следует сразу же после освещения К-светом, но если облучение ДК задерживать на все увеличивающиеся промежутки времени, то наступает такой момент, когда ДК больше не меняет эффект К, что свидетельствует о наступлении событий, вызванных конверсией в P_{DK} . Этот период, после которого возможность обратного превращения уже упущена, называется временем «утечки» и колеблется от 1,5 мин до 9 ч для разных тканей.

Если ткани растения оставить в темноте после однократного освещения К-светом, то начавшееся понижение уровня общего фитохрома сменится его увеличением. Это наводит на мысль, что происходит синтез нового фитохрома в форме P_K . Наличие

синтеза было подтверждено с помощью плотностного мечення (см. с. 149): когда ткани растения инкубировали с D_2O , дейтерий включался в P_K .

В результате протекания всех рассмотренных выше процессов в активных растительных тканях происходит непрерывный «круговорот», включающий синтез, взаимопревращения, деструкцию и реверсию, что можно выразить следующей схемой:



8.7. СПОСОБ ДЕЙСТВИЯ ФИТОХРОМА

Многие управляемые фитохромом реакции, по-видимому, включают действия генов, которые до этого не экспрессировались. Например, развитие эпидермальных волосков и образование антоциана у гипокотилей горчицы находятся под контролем фитохрома и, видимо, должны включать экспрессию генов, которые не функционировали у выращиваемых в темноте проростков. Кроме того, экспрессия генов предполагает синтез ферментов и их активность. Регулирование фитохромом этих двух процессов также было продемонстрировано. Эти наблюдения показывают, что действие фитохрома проявляется либо посредством управления синтезом ферментов на транскрипционном или трансляционном уровне, либо посредством управления активацией уже существующих ферментов. Однако любая попытка сформулировать общую теорию с учетом всех разнообразных регулируемых фитохромом реакций должна принимать во внимание различные эффекты, которые включают быстрые изменения проницаемости мембран.

Например, для листьев некоторых растений, таких, как *Mimosa pudica* и *Albizia julibrissin*, характерны так называемые «движения засыпания», т. е. складывание листочков вверх или вниз. Такие движения, происходящие в результате изменения тургорного давления в клетках листовых подушечек, находящихся в месте прикрепления листочка к средней жилке, очевидно, в какой-то степени находятся под контролем фитохрома, поскольку в конце светового периода их можно ингибировать воздействием ДК-света, а влияние ДК может быть снято К-светом. Такой эффект ДК наблюдается приблизительно через

10 мин. Изменения тургора сопровождаются движением ионов калия внутрь клетки и из нее, что изменяет ее осмотические свойства. Еще более быструю реакцию можно наблюдать у кончиков корней ячменя и золотистой фасоли, которые при определенных условиях после освещения К-светом могут «прилипнуть» к стеклянной поверхности, имеющей отрицательный заряд. Этот эффект может быть снят действием ДК. Данный эксперимент показывает, что поверхность корня приобретает положительный заряд под действием К-света и что эффект К может быть изменен на обратный ДК.

Как было установлено, облучение красным светом приводит к быстрым изменениям электрического потенциала у некоторых органов. Например, под действием красного света верхушка этиолированного колеоптиля через 15 с становится более электроположительной по отношению к основанию; аналогичные изменения можно наблюдать и у кончиков корней золотистой фасоли. Если облученные красным светом колеоптили снова поместить в темноту, то через несколько минут электрический потенциал снова возвратится к своему начальному значению, после чего под действием ДК будет происходить дальнейшее его уменьшение, причем лаг-период будет опять составлять всего лишь 15 с.

Представляется очевидным, что эти различные типы быстрого эффекта, следующие за конверсией фитохрома, обусловлены изменением проницаемости клеточных мембран для электролитов, таких, как ионы калия. Поскольку быстрые эффекты возникают почти мгновенно, и, как в случае с изменением биопотенциалов у колеоптилей, это относится к противоположным эффектам красного и дальнего красного, можно предположить, что мембранные изменения очень близки по времени к первичному действию фитохрома. На основании этого обычно считается, что первичный способ действия фитохрома обязательно должен включать изменения свойств клеточных мембран. Это предположение согласуется с данными по внутриклеточной локализации фитохрома (с. 307).

Однако, хотя *первичный* способ действия может включать изменения мембранной проницаемости, существуют достаточно убедительные данные, что вторичные эффекты обратимости фитохрома связаны с процессами регуляции действия ферментов. Так, у проростков овса при облучении К-светом происходит быстрое превращение АДФ в АТФ, а в других тканях происходит изменение уровней НАДФ, что можно предотвратить облучением ДК-светом. Кроме того, облучение К-светом приводит к повышению активности целого ряда ферментов. Так, К-свет повышает уровень фенилаланин—аммиак-лиазы (ФАЛ) (рис. 8.10), которая катализирует отщепление аммиака от молекулы фенилаланина с образованием коричной кислоты у проростков гороха.

В этом примере К-свет, по-видимому, приводит к активации уже существующих ферментов, а не к синтезу новых ферментов, но у горчицы непрерывное освещение ДК стимулирует синтез аскорбатоксидазы. Освещение этиолированных листьев фасоли К-светом через час приводит к заметному повышению числа полисом, что наводит на мысль об увеличившейся доступности информационной РНК.

Природа процессов, связывающих первичные изменения мембранной проницаемости с различными метаболическими явлениями, включающими фитохром, остается неясной. Однако установлено, что облучение К-светом приводит к быстрому увеличению экстрагируемых гиббереллинов и цитокининов в этиолированных и зеленых листьях, а также в некоторых семенах. Так, 5-минутная экспозиция К-светом вызывает заметное повышение уровня гиббереллинов у этиолированных листьев ячменя и пшеницы (рис. 8.11) и уровня цитокинина в семенах щавеля и листьях осины (*Populus robusta*). Вполне возможно, что эти гормоны действуют как «вторые посредники» и обеспечивают связь между первичными и вторичными эффектами конверсии фитохрома. Например, этиолированные листья ячменя и пшеницы, растущие в полной темноте, плотно скручены, но их можно индуцировать к раскручиванию кратковременным освещением красным светом, влияние которого может быть снято дальним красным. Однако срезы этиолированных листьев ячменя могут разворачиваться и в результате обработки экзогенным гиббереллином (GA_3), а это говорит о том, что эффект красного света может служить посредником в увеличении количества эндогенных гиббереллинов. В экспериментах на бесклеточных препаратах из листьев ячменя, содержащих этиопласты, были обнаружены изменения уровней гиббереллинов в ответ на облучение красным светом, аналогичные изменениям, наблюдаемым у интактных листьев. Следовательно, в этиопластах протекают регулируемые фитохромом процессы, влияющие на уровень гиббереллина.

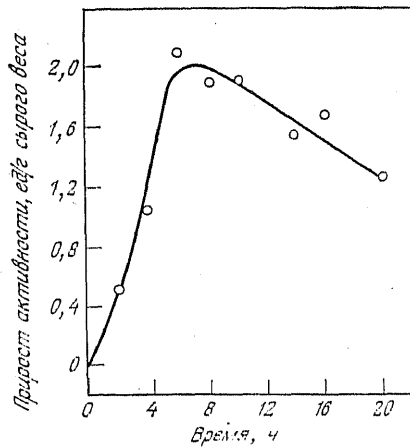


Рис. 8.10. Изменение активности фенилаланин-аммиак-лиазы, экстрагированной из терминальных почек, после облучения интактных этиолированных проростков гороха красным светом $200 \text{ кэрг} \cdot \text{см}^{-2}$. (T. H. Attridge, H. Smith, Biochim. Biophys. Acta, 148, 805, 1967.)

8.8. ВЫСОКОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

Как было показано, симптомы этиоляции побегов, растущих в полной темноте (резко выраженное удлинение междоузлий, медленное развитие листьев, отсутствие хлорофилла), можно снять путем ежедневного освещения этих побегов в течение довольно коротких промежутков времени (5 мин) К-светом, а эффект красного света можно изменить на обратный воздействием дальним красным, что совершенно четко указывает на присутствие фитохрома. Однако вид побегов, кратковременно освещаемых К-светом низкой интенсивности, еще очень далек от «нормального», и для того чтобы они приобрели характерный вид побегов, выращенных при естественном дневном свете, их необходимо ежедневно по несколько часов освещать дневным светом высокой интенсивности. Так, работа с проростками горчицы показала, что если короткие периоды ДК-света низкой интенсивности обращают эффект красного, то более длительные периоды освещения дальним красным вызывают те же эффекты, что и освещение красным, т. е. снимают характерные

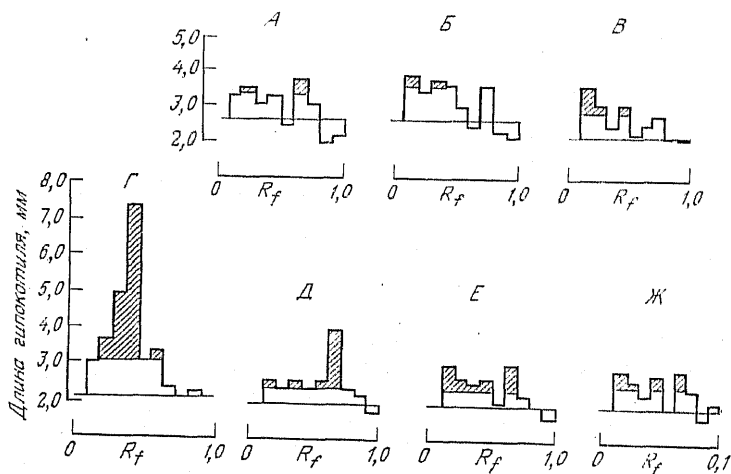


Рис. 8.11. Влияние красного света на содержание эндогенных гиббереллинов в этиолированных листьях пшеницы. (L. Beevers, L. B. Loveys, J. A. Pearson, P. F. Wareing, *Planta* (Berl.), 90, 286, 1970.)

Каждая отдельная гистограмма представляет активность гиббереллина, содержащегося в экстрактах листьев после разделения на 10 фракций с помощью хроматографии на бумаге. Каждая фракция испытывалась на поддержание эффекта роста hypocotилей салата. Заштрихованные части гистограмм — гиббереллиновая активность, значительно превышающая контроль. А. Листья, выращенные в темноте. Б. Красный свет 5 мин. В. Красный свет 5 мин+5 мин темнота. Г. Красный свет 5 мин+10 мин темнота. Д. Красный свет 5 мин+20 мин темнота. Е. Красный свет 5 мин+30 мин темнота. Ж. Красный свет 5 мин+60 мин темнота.

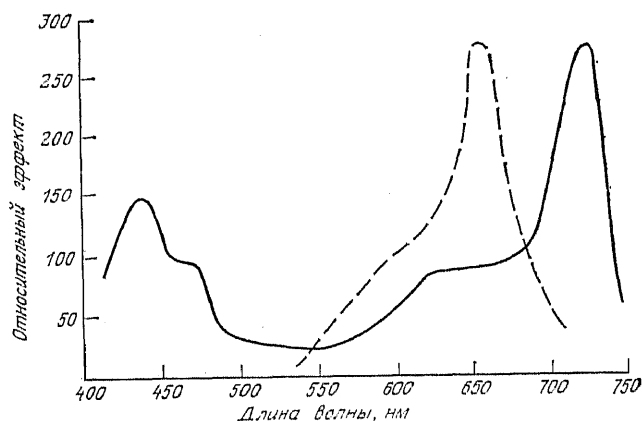


Рис. 8.12. Объединенный спектр действия высокоэнергетической реакции (сплошная линия) и низкоэнергетической реакции (штриховая линия). (H. Mohr, Biol. Rev., 39, 87, 1974.)

признаки этиоляции, приводя к разворачиванию семядолей, замедлению удлинения hypocotyle и развитию антоциана. Кроме того, если реакция на короткие периоды действия ДК достигает «насыщения» при довольно низких интенсивностях, то эффекты более длительных периодов освещения ДК продолжают нарастать, пока интенсивность не достигнет наивысшего уровня. Следовательно, можно сказать, что такие эффекты включают высокоэнергетические реакции (ВЭР).

Спектр действия ВЭР имеет наибольшие пики в ДК-области при 710–730 нм и в синей области (рис. 8.13). Ранее считалось, что ВЭР должны иметь отдельный, отличный от фитохрома, фоторецептор. Однако позднее было установлено, что эффекты ВЭР в ДК-области почти несомненно опосредованы действием фитохрома. Основание к такому заключению дает следующий эксперимент: когда ткани hypocotyle салата освещают ДК, 3% общего фитохрома остается в форме $P_{ДК}$. Это происходит вследствие частичного перекрытия спектров поглощения P_K и $P_{ДК}$ (рис. 8.12), так что после освещения тканей ДК наступает «фотостационарное состояние», при котором достигается равновесие между фотоконверсией $P_{ДК}$ в P_K и обратной реакцией. Эффект ВЭР можно вызвать путем облучения тканей смешанным К и ДК при различных интенсивностях и пропорциях, составленных так, чтобы 3% общего фитохрома оставалось в $P_{ДК}$ -форме. Таким образом, можно считать, что фитохром представляет собой фоторецептор для высокоэнергетических эффектов ДК-света. Аналогичные результаты были получены и при

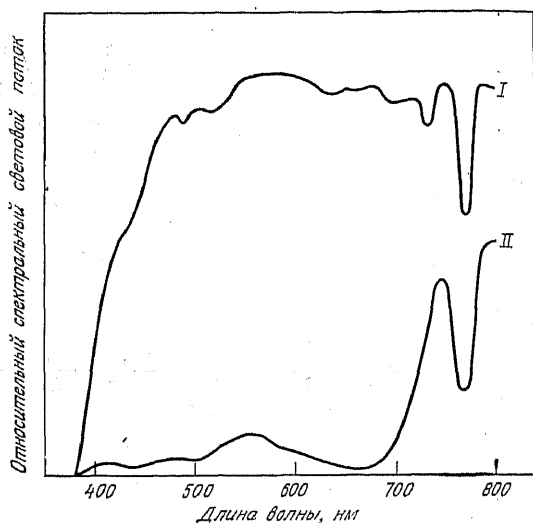


Рис. 8.13. Типичное спектральное распределение естественного дневного света до (I) и после (II) прохождения через полог растительности. (M. G. Holmes, H. Smith, 1977.)

других реакциях, но критический процент варьировал в зависимости от типа ткани. Следовательно, можно считать, что фитохром представляет собой фоторецептор для высокоэнергетических эффектов и в дальней красной области. Однако имеются данные, что эффекты в синей области спектра действия ВЭР связаны с участием какого-то другого фоторецептора. Так, спектр действия ВЭР в синей области идентичен спектру действия фототропизма как у высших растений, так и у грибов, которые не содержат фитохрома. Опять же у проростков колючего огурца, перенесенных из темноты на синий свет, спустя 30 с происходит снижение скорости растяжения гипокотыля, тогда как при освещении дальним красным лаг-период составляет 40 мин. Фоторецептором, обуславливающим ВЭР в синей области, может быть флавин, контролирующий многие фотобиологические реакции как у низших, так и у высших растений.

В естественных условиях растения, конечно же, не подвергаются воздействию монохроматического К- или ДК-света; нормальный дневной свет обеспечивает «фотостационарное состояние», при котором большая часть общего фитохрома будет находиться в P_{dk} -форме. Из данных, приведенных выше, становится ясно, что ВЭР фитохрома обеспечивают нормальное развитие зеленых побегов в естественных условиях.

8.9. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ФИТОХРОМА

Благодаря свойству фотообратимой изомеризации система фитохрома дает растению способность «ощущать» качество естественно поступающего света и реагировать на изменение освещенности. При большой плотности, будь то в естественных условиях или при искусственной посадке, растения обычно затеняют друг друга, меняя тем самым условия освещения для тех из них, которые находятся в тени. Поскольку дневной свет содержит К и ДК приблизительно в одинаковой пропорции, а хлорофилл сильнее поглощает в красной области, свет, прошедший через листовую полог, будет содержать гораздо больше ДК (рис. 8.13).

Влияние изменения спектрального состава света в пределах листового полога было подробно изучено Смитом и его коллегами. Коэффициент квантового потока с шириной полосы 10 нм соответственно при 660 и 730 нм использовался как мера спектрального распределения энергии в основных областях, которые воздействуют на систему фитохрома. Этот коэффициент был обозначен как ξ . Значение ξ колеблется приблизительно от 1,15 для полного дневного света до 0,05 для света под густым пологом растительности.

Значение ξ влияет на пропорцию общего количества фитохрома в состоянии P_{dk} , которая обозначается как ϕ . Наибольшее количество фитохрома в форме P_{dk} существует при естественном дневном свете, когда равновесие $P_{dk}/P_{общ}$ (ϕ) = 0,54. Используя комбинированные источники света (лампы накаливания и лампы дневного света), можно изменить значение ξ и измерить соответствующие значения ϕ в этилированных тканях, в результате чего мы получаем кривую, выражающую

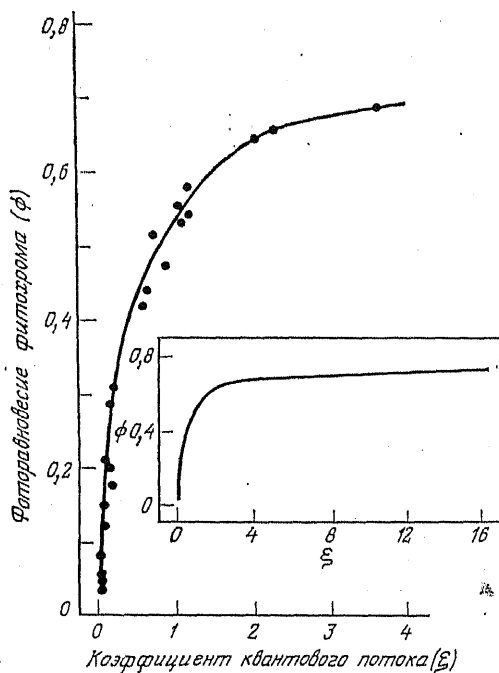


Рис. 8.14. Зависимость между равновесием фитохрома (ϕ) и коэффициентом квантового потока (ξ) при различных световых режимах. (M. G. Holmes, H. Smith, 1977.)

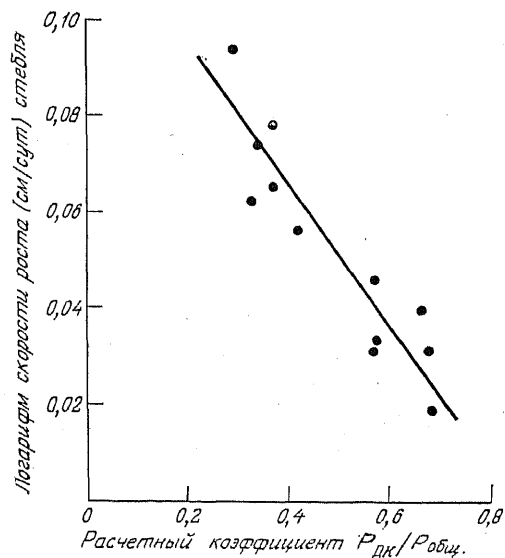


Рис. 8.15. Зависимость скорости удлинения стебля от равновесия фитохрома (ϕ) у проростков *Chenopodium album* L. (D. C. Morgan, H. Smith, 1978.)

шую зависимость между ϕ и ξ для широкого ряда значений последней (рис. 8.14). Из этого рисунка видно, что пропорция P_{dk} наиболее чувствительна к спектральным изменениям в пределах значений ξ от 0 до 1,0, соответствующих как раз естественным условиям. Это означает, что фото-равновесное состояние фитохрома (выраженное через ϕ) в значительной степени будет отвечать изменениям спектрального состава света, обнаруженным в пределах листового полога посеянных или естественно растущих растений. В последующих экспериментах растения *Chenopodium album* L. выращивали при различных

комбинациях источников света, что обеспечивало различные сочетания красного и дальнего красного и, следовательно, изменение значения ϕ . Параллельно проводилось измерение удлинения междоузлий растений. В результате была установлена линейная зависимость между логарифмом скорости растяжения стебля и значением ϕ (рис. 8.15). Эта зависимость позволяет предположить, что удлинение стебля регулируется системой фитохрома и что фитохром, определяя различные значения ϕ , позволяет растениям управлять распределением спектра естественной радиации в пределах листового полога.

Способность растения удлинять стебель и таким путем возвышаться над соседними растениями дает ему преимущество в жесткой конкуренции за свет, часто существующей в естественных густых растительных сообществах или в искусственных густых насаждениях.

Роль фитохрома в покое светочувствительных семян и их реакции в естественных условиях рассмотрены в гл. 11.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

Kendrew R. E., Frankland B., 1976. Phytochrome and Plant Growth, Edward Arnold, London.

Smith H., 1975. *Phytochrome and Photomorphogenesis*, McGraw-Hill Book Co. (UK). Ltd., Maidenhead.

Специальная литература

Briggs W. R., Rice H. V. (1972). *Phytochrome: chemical and physical properties and mode of action*, Ann. Rev. Plant Physiol., **23**, 293.

Furuya M. (1968). *Biochemistry and physiology of phytochrome*, Prog. Phytochem., **1**, 347.

Holmes M. G., Smith H. (1977). *The function of phytochrome in natural environment II*, Photochem. Photobiol., **25**, 538.

Marnié D. (1977). *Phytochromes: membranes as possible sites of primary action*, Ann. Plant Physiol., **28**, 173.

Morgan D. C., Smith H. (1978). *The relationship between phytochrome photoequilibrium and development in light grown *Chenopodium album* L.* Planta., **142**, 187.

Schoffer P. (1977). *Phytochrome control of enzymes*, Ann. Rev. Plant Physiol., **28**, 233.

Smith H. (ed.), 1976. *Light and Plant Development*, Butterworths, London.

Smith H., Holmes M. G. (1977). *The function of phytochrome in the natural environment III*, Photochem. Photobiol., **25**, 547.

Smith H., Kendrick R. E. *The structure and properties of phytochrome.*

Chapter by: R. E. Kendrick, Smith H., Salter R. L., Galston A. W., 1976. In: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments* (ed. T. W. Goodwin), 2nd ed. Academic Press London and New York.

Chapters by: Borthwick H. A., Frankland B., Haupt W., Spruit C. J. P., 1972. In: *Phytochrome* (ed. K. Mitrakos and W. Shropshire, Jr.), Academic Press, London and New York.

Глава 9

Физиология цветения: фотопериодизм

9.1. ВВЕДЕНИЕ

В типичном жизненном цикле травянистых растений начальная фаза обычно представлена вегетативным ростом, после чего раньше или позже наступает репродуктивная фаза. Однако существует большое разнообразие в выраженности этих двух фаз; у некоторых растений переход от вегетативного роста к репродуктивному четко выражен, как, например, у пшеницы или подсолнечника, у других же вегетативный рост и цветение происходят одновременно, как, например, у фасоли (*Phaseolus multiflorus*) и томата (*Lycopersicum esculentum*). Если у первого типа растений рост обычно детерминированный, т. е. ось заканчивается соцветием, то у второй группы цветки пазушные и закладываются на боковых побегах, а главная ось продолжает вегетативный рост. Однако у растений обеих групп почти всегда существует определенный минимальный период «чисто» вегетативного роста, за исключением лишь тех случаев, когда цветки образуются сразу же после прорастания семян, как у *Chenopodium rubrum*, в условиях короткого дня. Продолжительность этой вегетативной фазы сильно варьирует. Обычно определенный период связан с последовательным формированием новых листьев на апексе побега. У некоторых многолетников, однако, число листьев предопределено еще в стадии покоя, и вегетативная фаза включает только развитие листовых примордиев, заложившихся в предыдущем году, как, например, у многих луковичных и древесных растений.

9.1.1. Факторы, определяющие наступление цветения

Какова же причина перехода от вегетативной фазы к репродуктивной? Связан ли этот переход с каким-то внутренним регулирующим механизмом, детерминированным генетической конституцией вида, или зависит от изменения внешних условий? Известно, что растения проявляют чрезвычайное разнообразие в отношении чувствительности к внешним условиям. Развитие некоторых видов относительно не зависит от внешних условий, если только эти условия не настолько неблагоприятны, чтобы полностью подавить рост, и в конечном итоге такие растения

зацветают в широком диапазоне колебаний внешних факторов. Однако у других видов наступление цветения в большей степени зависит от внешних условий и при некоторых температурных или световых условиях, они не зацветают, даже если эти условия вполне благоприятны для роста; иными словами, условия для цветения не обязательно аналогичны таковым для вегетативного роста.

Поскольку наши знания по физиологии цветения в значительной мере относятся к видам, чувствительным к внешним условиям, мы сначала рассмотрим эту группу, а затем вкратце познакомимся с данными, касающимися регуляции цветения у группы «нечувствительных» растений.

9.1.2. Количественное измерение реакций цветения

Различия между условиями для вегетации и цветения чисто качественные. Однако при изучении физиологии цветения важно иметь точную меру реакции цветения на различные воздействия. Для этой цели использовались разнообразные показатели цветения, такие, как: 1) процент цветущих растений в группе, подвергавшейся тому или иному воздействию; 2) общее число цветков или общее число цветоносных побегов; 3) время появления первых цветков (чем короче время, тем сильнее реакция); 4) число листьев, сформированных до начала цветения; 5) оценка стадии развития цветков по «баллам». Этот последний метод используется в тех случаях, когда сформированные цветки остаются микроскопическими и не полностью развитыми. Определенное число баллов по произвольной шкале приписывают разным стадиям развития (рис. 9.1), а затем определяют общий балл для данной партии растений.

9.2. ФОТОПЕРИОДИЗМ

Факт влияния сезонных изменений длины дня на жизненный цикл многих растений был впервые четко продемонстрирован американскими селекционерами Гарнером и Аллардом в 1920 г. Гарнер и Аллард обратили внимание на особенность зацветания некоторых сортов табака (*Nicotiana tabacum*) и сои (*Glycine max*). Растения только что выведенного сорта табака Maryland Mammoth энергично росли в течение всего лета, но не цвели. При выращивании зимой в оранжерее растения этого же сорта обильно цвели и плодоносили. Некоторые сорта сои, высаживаемые с последовательными интервалами в течение весны и лета, зацветали в одно и то же время, хотя период вегетации прогрессивно сокращался в результате запаздывания срока посева. Гарнер и Аллард попытались регулировать цветение табака и сои путем изменения температуры, питания и влажности почвы,

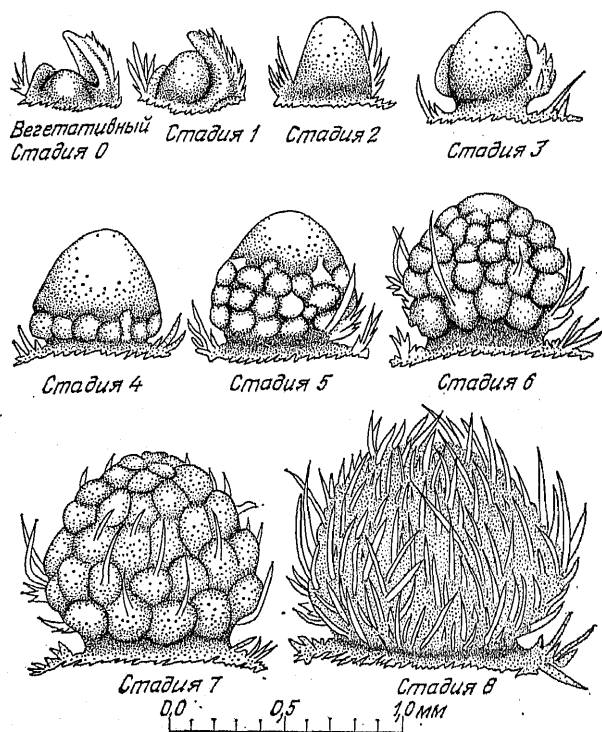


Рис. 9.1. Развитие примордия мужского соцветия у *Xanthium*. (F. B. Salisbury, Plant Physiol., 30, 327, 1955.)

но ни один из этих факторов не оказывал значительного влияния на срок зацветания. Затем они исследовали эффект сокращения светового периода на несколько часов путем помещения растений в темную камеру и обнаружили, что в условиях короткого дня растения быстро переходили к цветению. После такого ошеломляющего открытия они испытывали влияние различной длины дня на большом числе видов растений. Изменение продолжительности дня достигалось двумя путями: 1) сокращением естественной длины дня в летние месяцы и 2) удлинением продолжительности дня в зимние месяцы путем искусственного освещения.

Было обнаружено, что для многих видов растений длина дня (т. е. продолжительность ежедневных световых и темновых периодов) является важнейшим фактором, определяющим рост и развитие и особенно цветение; это явление было названо *фото-периодизмом*. Вместе с тем имеются виды, у которых длина дня не оказывает существенного влияния на цветение. Растения, на

которые длина дня оказывает значительный эффект, могут быть разделены на две подгруппы: к первой относятся растения, у которых цветение индуцируется коротким днем. Такие растения называются *короткодневными* (КДР). Ко второй подгруппе относятся растения, зацветанию которых благоприятствуют длинные дни; эти растения называются *длиннодневными* (ДДР). Виды, у которых длина дня не оказывает сколько-нибудь заметного эффекта на зацветание, называются *промежуточными*, или *нейтральными*, к длине дня.

Некоторые виды растений могут постоянно оставаться в вегетативном состоянии, если находятся в условиях неблагоприятной длины дня, и, следовательно, могут быть названы облигатными фотопериодическими растениями. Сюда входят как КДР, например *Xanthium pennsylvanicum*, так и ДДР, например *Nyctagynis niger*. Другие виды характеризуются ускорением зацветания под воздействием короткого (КД) или длинного (ДД) дня, но в конечном итоге они зацветают и при неблагоприятных условиях длины дня, т. е. проявляют *количественную* фотопериодическую реакцию. К таким видам относятся короткодневные растения, например *Salvia splendens*, рис (*Oryza sativa*) и хлопчатник (*Gossypium hirsutum*), а также длиннодневные растения: пшеница (*Triticum*), лен (*Linum usitatissimum*). Для облигатных фотопериодических растений характерна *критическая длина дня*, ниже или выше которой цветение не наступает

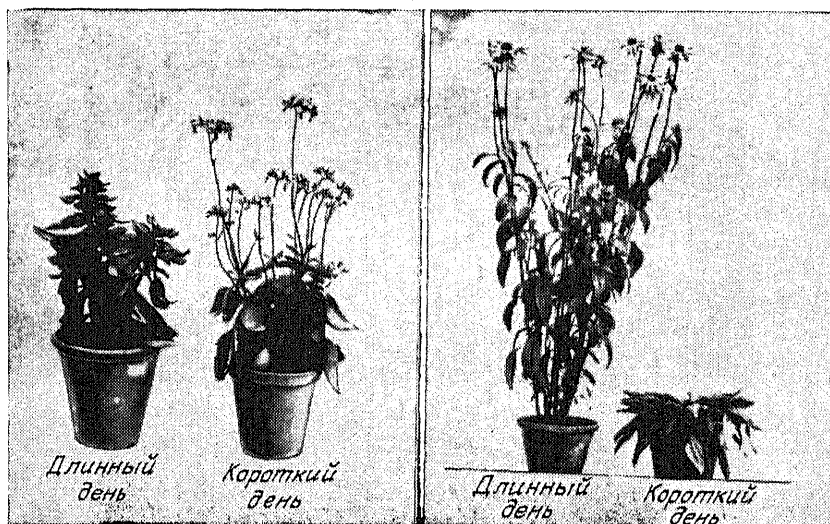


Рис. 9.2. Реакция цветения в условиях длинного и короткого дня *Kalanchoe blossfeldiana* (слева) и *Rudbeckia bicolor* (справа).

ни у ДДР, ни у КДР, тогда как факультативные фотопериодические растения проявляют лишь частичную реакцию на длину дня и не имеют четко выраженной критической точки. Примеры КДР и ДДР представлены на рис. 9.2 и перечислены в табл. 9.1.

Группа короткодневных включает многие растения, которые приурочены к регионам низких широт (севернее или южнее экватора), такие, как рис, сахарный тростник, конопля, просо и кукуруза. В этих регионах длина дня не превышает 14 ч в любой сезон года. В умеренных широтах, где дни летом длиннее, КДР обычно зацветают только в конце лета, когда день становится короче, например культивируемый *Michaelmas daisies* (виды рода *Aster*) и хризантемы. Типичные ДДР являются уроженцами умеренных широт и цветут летом при естественно длинных днях. Сюда относятся многие дикорастущие и культурные злаковые, а также другие распространенные культурные растения, такие, как шпинат (*Spinacia oleracea*), салат-латук (*Lactuca sativa*), свекла (*Beta vulgaris*), лен (*Linum usitatissimum*), разные виды клевера и многие дикорастущие виды. Помимо двух основных групп КДР и ДДР существует небольшая группа видов с «двойными» требованиями в отношении длины дня. Такие растения для перехода к цветению сначала должны находиться в условиях длинного дня, а затем в условиях короткого, в соответствии с этим их называют *длиннокороткодневными* растениями (ДКДР). Проявление такого типа реакций можно наблюдать у *Bryophyllum crenatum* и *Cestrum nocturnum*. Другие виды, такие, как *Scabiosa succisa*, *Campanula medium* и *Trifolium repens*, должны находиться сначала на коротком, а затем на длинном дне; их называют *короткодлиннодневными* растениями (КДДР).

Виды, имеющие широкий ареал со значительными различиями по широте между северной и южной границами, делятся на определенное число рас, или экотипов, отличающихся по реакции на длину дня, например золотарник (*Solidago sempervirens*), широко распространенный вдоль западного побережья Северной Америки, и многолетний плевел (*Lolium temulentum*), широко представленный в Европе и Северной Африке. Различные формы в пределах данных видов проявляют целый ряд последовательных градаций от типично короткодневных до типично длиннодневных или наоборот.

9.2.1. Другие реакции на длину дня

Продолжительность дня оказывает влияние не только на инициацию цветения, но и на некоторые чисто вегетативные процессы в растениях. Так, можно наблюдать, что при коротком дне длина междоузлий меньше, чем при длинном. Крайнее проявление этого эффекта обнаруживается у некоторых длинно-

Некоторые примеры короткодневных и длиннодневных растений

Короткодневные растения

А. Виды с абсолютным или качественным типом фотопериодической реакции

Amaranthus caudatus (амарант хвостатый, щирица)
Chenopodium album (марь белая)
Chrysanthemum morifolium (хризантема)
Coffea arabica (кофе арабийский)
Euphorbia pulcherrima (молочай краснейший)
Fragaria (земляника)
Glycine max (соя культурная)
Ipomoea hederacea (ипомея)
Kalanchoe blossfeldiana (каланхоэ Блоссфельда)
Lemna perpusilla (ряска)
Nicotiana tabacum (табак, сорт Maryland Mammoth)
Perilla ocymoides (перилла)
Xanthium strumarium (дурнишник)

Б. Виды с количественным типом реакции

Cannabis sativa (конопля)
Cosmos bipinnatus (космея дваждыперистая)
Gossypium hirsutum (хлопчатник обыкновенный)
Oryza sativa (рис)
Saccharum officinarum (сахарный тростник)
Salvia splendens (шалфей блестящий)

Длиннодневные растения

А. Виды с абсолютным или качественным типом фотопериодической реакции

Alopercurus pratensis (лисохвост луговой)
Anagallis arvensis (очный цвет)
Anethum graveolens (укроп)
Avena sativa (овес)
Dianthus superbus (гвоздика пышная)
Festuca elatior (овсяница)
Hyoscyamus niger (белена)
Lolium temulentum (плевел)
Melilotus albus (донник белый)
Mentha piperita (мята перечная)
Phleum pratensis (тимофеевка луговая)
Raphanus sativus (редис)
Rudbeckia bicolor (рудбекия)
Sedum spectabile (седум)
Spinacia oleracea (шпинат)
Trifolium spp. (клевер)

Б. Виды с количественным типом реакции

Antirrhinum majus (львиный зев)
Beta vulgaris (свекла столовая)
Brassica rapa (турнепс)
Hordeum vulgare (ячмень обыкновенный)
Lactuca sativa (салат-латук)
Oenothera spp. (энотера, ослинник)
Petunia hybrida (петуния)
Pisum sativum (горох огородный)
Poa pratensis (мятлик луговой)
Secale cereale (рожь посевная)
Triticum aestivum (пшеница мягкая)

дневных видов, которые при коротком дне принимают «розеточную» форму, например белена (*Hyoscyamus niger*). Образование усов у земляники (*Fragaria*) происходит только при длинном дне. Земляника имеет розеточный габитус, который, однако, не связан с продолжительностью дня, но придаточные побеги (так называемые усы), образование которых происходит только при длинном дне, имеют удлинённые междоузлия.

Образование клубней также в значительной степени зависит от длины дня. Условия КД благоприятны для топинамбура (*Helianthus tuberosus*) и для многих дикорастущих видов картофеля (например, *Solanum andigena*). (Культивируемые европейские сорта картофеля не очень чувствительны к длине дня и формируют клубни даже при ДД.) Лук (*Allium cepa*) наоборот, требует ДД для образования луковиц.

Длина дня оказывает большое влияние на рост и опадение листьев многих древесных растений, но этот вопрос будет рассмотрен ниже.

9.2.2. Чувствительность к длине дня

Многие растения чрезвычайно чувствительны к изменениям длины дня даже на 15—20 мин. Так, на время цветения некоторых из них, например определенных сортов риса *Oryza sativa*, могут оказывать существенное влияние даже незначительные сезонные изменения продолжительности дня, которые наблюдаются в тропиках. Столь же высокой чувствительностью обладает дурнишник (*Xanthium strumarium*), который цветет только при длине дня $15\frac{3}{4}$ ч или менее. Ясно, что для восприятия изменений длины дня такие растения должны обладать очень чувствительным механизмом.

Вариации по чувствительности к длине дня проявляются в числе фотопериодических циклов, необходимых для индукции цветения. Так, растениям *Xanthium* достаточно одного короткодневного цикла для зацветания, и индуцированные к цветению таким путем растения будут продолжать образовывать цветки в течение последующих 12 мес. Длиннодневный злак *Lolium italicum* также зацветает в ответ на один длиннодневный цикл. Однако такие случаи являются исключением, и для большинства фотопериодических растений одного цикла обычно недостаточно. Более того, даже у *Xanthium* развитие цветков ускоряется после воздействия 2—3 КД-циклов. У сои число узлов, образующих цветки, увеличивается в линейной зависимости от числа КД-циклов по крайней мере до 7. У многих видов требования в отношении длины дня с возрастом значительно меняются и часто минимальное число индуктивных циклов уменьшается по мере старения растения. Кроме того, некоторые КДР (например, соя), зацветающие только при коротких днях, в молодом возрасте могут зацветать даже при длинных днях.

9.3. СВЕТОВЫЕ И ТЕМНОВЫЕ ПРОЦЕССЫ У КОРОТКОДНЕВНЫХ РАСТЕНИЙ

Изучению световых и темновых реакций короткодневных видов посвящено значительно большее число работ, и наши знания об этом типе растений намного обширнее, чем о ДДР.

Во-первых, важно установить, какая часть растения «определяет» длину дня. Ясно, что при переходе от вегетативного к генеративному состоянию реакция происходит в апексе побега, но из этого не следует, что восприятие длины дня происходит именно в этой части растения. Действительно, советским исследователем М. Х. Чайлахяном было показано, что реакции КДР, таких, как хризантемы, определяются условиями длины дня, которым подвергаются *листья*, а апексы побегов в данном случае являются, по-видимому, относительно нечувствительными. Воздействуя независимо на листья и апикальные зоны побега условиями длинного или короткого дня (рис. 9.3), он обнаружил, что цветение наступало только в том случае, если зрелые листья находились в условиях КД. Следовательно, именно листья воспринимают длину дня, хотя ответная реакция происходит в апексе побега. М. Х. Чайлахян понял, что какой-то «сигнал» должен поступать из листьев, вызывая реакцию апексов. Возможную природу этого «сигнала» мы рассмотрим в следующей главе.

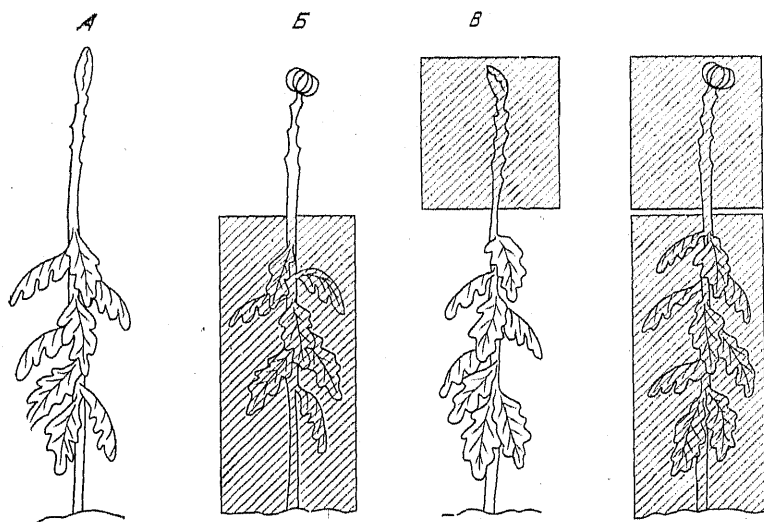


Рис. 9.3. Зацветание хризантемы происходит, если листья находятся в условиях короткого дня (Б, Г), независимо от того, находятся ли апексы в условиях длинного (Б) или короткого (Г) дня.

У большинства растений пик фотопериодической чувствительности листьев наступает, по-видимому, как только они достигнут максимальных размеров. На этой стадии даже небольшое количество листовой ткани достаточно для того, чтобы вызвать цветение. Так, у *Xanthium* достаточно 2 см² площади листа для зацветания в условиях КД.

Наиболее чувствительны к условиям длины дня ткани листа, однако у некоторых видов ткани стебля также проявляют определенную чувствительность; хорошим примером этого служит КДР *Plumbago indica*. В самом деле, изолированный отрезок стебля этого вида, помещенный в стерильную культуру, можно индуцировать к цветению в условиях КД (рис. 9.4), тогда как в условиях ДД он остается вегетативным.

Следующая проблема, требующая выяснения, состоит в том, чем определяются реакции КДР: 1) длиной ежедневного светового периода, 2) длиной темнового периода или 3) *относительной* продолжительностью светового и темнового периодов. Сразу же можно сказать, что реакции КДР в основном не зависят от общей продолжительности освещения, которое они получают каждый день. Это подтверждается фактом зацветания сои после

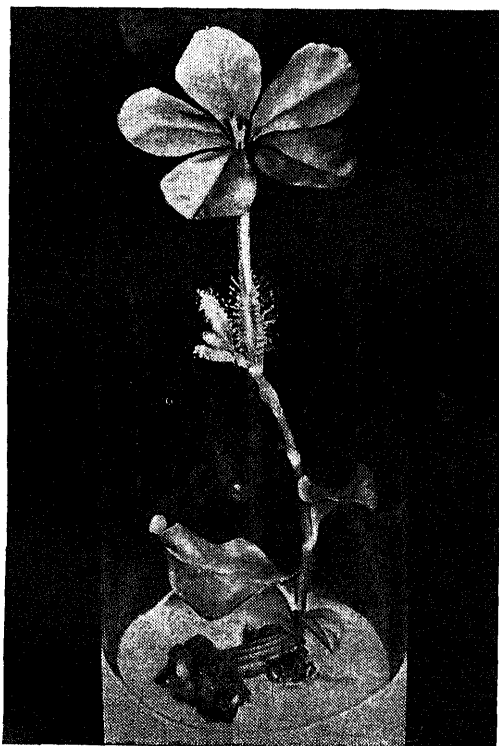


Рис. 9.4. Индукция цветения *in vitro*. (Эксперимент J. P. Nitsch и C. Nitsch. Фотография Mlle B. Norreel любезно предоставлена д-ром J. P. Nitsch.)

Образование цветка у свинчатки (*Plumbago indica* L. Angkor) на отрезке стебля (длиной 7 мм) вегетативного растения, выращиваемого на питательном агаре, происходит только в том случае, если культура находится в условиях короткого дня продолжительностью 10 ч. В условиях длинного дня (16 ч) образуются вегетативные почки.

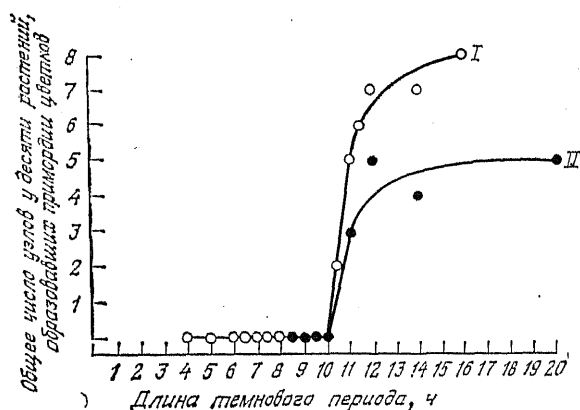


Рис. 9.5. Влияние различной продолжительности темнового периода при постоянном 16-часовом (I) или 4-часовом (II) фотопериодах на цветение сои (*Glycine max*). (К. С. Hamner, Bot. Gaz., 101, 658, 1940.)

трех циклов, состоящих из 12 ч света и 12 ч темноты, и отсутствием цветения, если растения получают 36 ч света с последующими 36 ч темноты, или если циклы состоят из чередующихся 6-часовых периодов света и темноты, хотя во всех режимах общая продолжительность света и темноты одинакова.

Если проводить эксперименты на основе естественных 24-часовых циклов, то невозможно менять длину светового и темнового периодов независимо друг от друга; однако при использовании источников искусственного освещения, например люминесцентных ламп, сделать это удастся, поскольку можно подбирать желаемую комбинацию светового и темнового периодов. К. Хамнер первым использовал преимущество этого метода в ряде ставших теперь классическими экспериментов с дурнишником и соей. Взяв сою, он вначале исследовал эффект изменения длины темнового периода при постоянной продолжительности светового, составлявшего 4 или 16 ч. Результаты этих экспериментов (рис. 9.5) достаточно четко показали, что соя не зацветает до тех пор, пока длина ежедневного темнового периода не достигнет 10 ч как при 4-часовом, так и при 16-часовом фотопериодах. Следовательно, для сои критический темновой период составляет приблизительно 10 ч, но максимальной реакции цветения можно достигнуть при темновых периодах в 16—20 ч. В аналогичных экспериментах с дурнишником Хамнер установил критический темновой период, необходимый для зацветания этого вида, который равен $8\frac{1}{4}$ ч.

Поскольку для зацветания КДР необходим определенный минимальный период темноты, возникает вопрос, не зацветут ли они быстрее в полной темноте и требуют ли они света вооб-

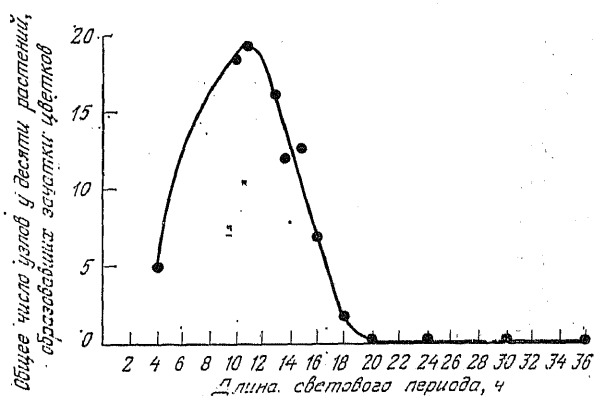


Рис. 9.6. Влияние изменения длины фотопериода при постоянном темновом периоде продолжительностью 16 ч на цветение сои. (К. С. Hamner, Bot. Gaz., 101, 658, 1940.)

ще? Было установлено, что хотя некоторые виды, особенно имеющие клубневидные запасающие органы, зацветают в условиях непрерывной темноты, другие, например соя, требуют обязательного чередования света и темноты.

Исследовав темновые потребности сои, Хамнер перешел к изучению ее световых потребностей. Используя постоянный 16-часовой темновой период и меняя длину светового, он обнаружил, что реакция цветения усиливается с увеличением длины светового периода приблизительно до 12 ч (рис. 9.6). Дальнейшее увеличение светового периода вело к уменьшению числа образующихся цветков, а при 20-часовом световом периоде цветения вообще не наблюдалось, хотя этот световой период давался при длинном (16-часовом) темновом периоде. Таким образом, для зацветания сои должны быть соблюдены следующие условия: 1) ежедневный темновой период должен превышать 10 ч и 2) продолжительность светового периода не должна превышать определенной величины. Конечно, в естественных условиях 10-часовой или больший темновой период может сопровождаться только 14-часовым или меньшим световым периодом, поэтому в природе реакция цветения регулируется, по-видимому, в большей степени длиной темнового периода, чем светового. По этой причине для короткодневных растений больше подошло бы название «длинноночные». У некоторых КДР, например у *Xanthium*, длинные фотопериоды не ингибируют цветение, поскольку оно определяется исключительно длиной темнового периода.

Итак, установив, что цветению короткодневных растений благоприятствует чередование света и темноты, можно спросить, должен ли свет предшествовать темноте или наоборот? В ориги-

нальных экспериментах на растениях *Xanthium*, которым, как мы видели, для зацветания достаточно всего одного КД, Хамнер смог показать, что длинному периоду темноты должен *предшествовать* адекватный период света высокой интенсивности и что высокоинтенсивное освещение после темнового периода также способствует цветению.

9.3.1. Природа «высокоинтенсивных» световых реакций

Хамнером и другими исследователями был изучен количественный аспект световых потребностей КДР во время фотопериода. Обычно световые потребности относительно высоки. Так, реакция цветения сои увеличивается по мере увеличения экспозиции дневным светом от 1 до 8 ч. Более того, при постоянной продолжительности фотопериодов (от 5 до 10 ч) число цветков непрерывно возрастает с увеличением интенсивности света.

Такие относительно высокие потребности в свете наводят на мысль, что основным процессом, протекающим во время фотопериода, является фотосинтез. Такое заключение подтверждается следующими фактами: 1) если цветение должно наступить, то во время фотопериода необходима двуокись углерода; 2) если листья некоторых короткодневных растений опрыскать сахарозой, то растения могут цвести в полной темноте. Таким образом, почти несомненно, что свет необходим КДР для адекватного протекания фотосинтетических процессов. Этого следовало ожидать, поскольку адекватное снабжение энергией в форме углеводов будет явно необходимо для прохождения в листьях других метаболических процессов, более тесно связанных с цветением.

9.3.2. «Темновые» реакции короткодневных растений

Как мы видели, КДР должны подвергаться воздействию ежедневных циклов, включающих минимальный период темноты, так называемый «критический» темновой период. Этот критический темновой период, по-видимому, относительно постоянен и не зависит от длины фотопериодов, при довольно широких колебаниях продолжительности последних. На первый взгляд может показаться, что темновой период играет пассивную роль в том смысле, что влияние темноты просто связано с отсутствием влияния света. Следовательно, можно постулировать, что свет ингибирует цветение, а ускорение цветения в темноте в первую очередь связано со снятием такого ингибирующего действия. Однако некоторые данные показывают, что во время темнового периода происходят какие-то положительные процессы, ускоряющие цветение. Так, известно, что эффективность темнового периода в определенных пределах увеличивается в зависи-

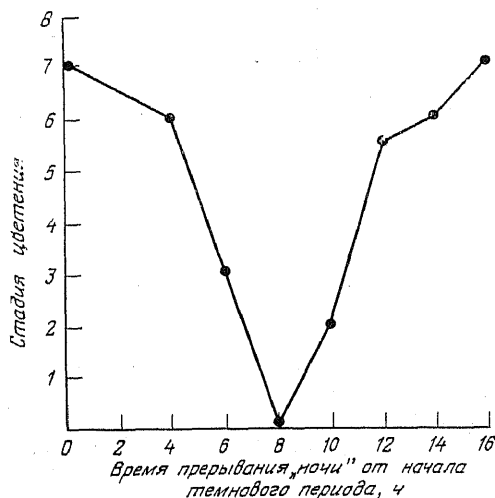


Рис. 9.7. Эффект прерывания «ночи» в различное время темного периода на цветение *Xanthium*. (F. Salisbury, J. Bonner, Plant Physiol., 31, 141, 1956.)

мости от температуры, что дает основание предположить существование положительного влияния этого фактора во время темного периода.

Обязательным условием в поддержании цветения является непрерывность темного периода — прерывание его всего лишь несколькими минутами света может полностью аннулировать эффект темного периода, и цветение будет ингибировано. Так, у *Xanthium* 1 мин освещения светом интенсивностью 150 фут-свечей (1500 лк) во время 9-часового темного периода подавляло цветение. Этот эффект был подробно исследован на *Xanthium*. Оказалось, что прерывание «ночи» было наиболее эффективно (в смысле ингибирования цветения) спустя 8 ч от начала темного периода независимо от его продолжительности по крайней мере в пределах 10—20 ч (рис. 9.7). Таким образом, мы столкнулись, по-видимому, с парадоксальной ситуацией, поскольку свет во время основного фотопериода, предшествующего длинному темновому периоду, способствует цветению, тогда как свет, данный во время темного периода, ингибирует цветение. Мы видели, что потребность в свете в основном фотопериоде связана с фотосинтезом, обеспечивающим образование ассимилятов, необходимых для метаболизма листа. Однако сейчас ясно, что эффекты коротких прерываний длинного темного периода в основном связаны не с фотосинтезом, а с реакцией фитохрома. Путем помещения растений сои и *Xanthium*, имеющих по одному листу, в различные области спектра, генерируемые

Таблица 9.2

Влияние ежедневного прерывания темнового периода последовательными освещениями К- и ДК-светом на заложение цветков у дурнишника и сон

Обработка	Среднее значение стадии флорального развития у дурнишника ¹⁾	Среднее число цветущих узлов у сон Билюксн
Темновой контроль	6,0	4,0
К	0,0	0,0
К, ДК	5,6	1,6
К, ДК, К	0,0	0,0
К, ДК, К, ДК	4,2	1,0
К, ДК, К, ДК, К	0,0	—
К, ДК, К, ДК, К, ДК	2,4	0,6

¹⁾ Метод определения см. на с. 218.

большим спектрографом, были определены спектры действия для эффектов прерывания, и эти спектры действия были почти идентичны тем, которые впоследствии установили для других регулируемых фитохромом реакций, таких, как прорастание семян и «деэтиоляция» побегов (рис. 8.4). Кроме того, для эффекта прерывания темноты была продемонстрирована обращаемость К/ДК (табл. 9.2), что окончательно подтверждает участие фитохрома в этой реакции.

Хотя у большинства изученных видов цветение ингибируется относительно коротким, всего лишь в несколько минут, прерыванием темноты, некоторые виды требуют более продолжительного прерывания (например, хризантема увенчанная требует 4-часового прерывания «ночи»).

«Время насыщения» у разных видов также значительно варьирует: например, у *Xanthium* влияние К-света обратимо, если облучение ДК следует не позднее чем через 40 мин, тогда как у *Chenopodium album*, *Pharbitis nil*, *Kalanchoë blossfeldiana* для эффективного действия ДК должен быть дан почти сразу же после действия К-света.

Эффекты К- и ДК-света, использованного для прерывания темноты, четко показывают, что стимулирующее влияние, оказываемое длинным индуктивным темновым периодом, тесно связано с уровнем $P_{ДК}$ в листе. В конце основного фотопериода большая часть фитохрома будет находиться в форме $P_{ДК}$, но уровень $P_{ДК}$, как мы видели, в темноте быстро снижается в связи с деградацией или реверсией. Однако, если после нескольких часов темноты следует короткая вспышка К-света, то высокий уровень $P_{ДК}$ восстанавливается, оказывая ингибирующее действие на процесс цветения (рис. 9.8), который требует, по-видимому, низких уровней $P_{ДК}$.

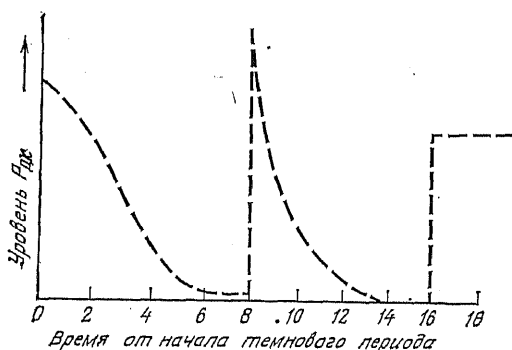


Рис. 9.8. Гипотетические изменения количества фитохрома P_{dk} в листьях во время темнового периода, прерванного кратковременным действием красного света.

Хотя при коротком прерывании темноты ДК снимает ингибирующее действие К, при более длительных периодах (например, 60 мин) ДК действует аналогично К-свету, т. е. ингибирует цветение, особенно после непродолжительных фотопериодов. Этот эффект, по-видимому, свидетельствует о том, что низкие уровни P_{dk} , обусловленные ДК-светом, за короткий период не оказывают влияния, но они могут стать эффективными, если поддерживаются более длительное время.

9.3.3. Влияние P_{dk} на ускорение цветения у короткодневных растений

Высокие уровни P_{dk} тормозят цветение, когда создаются во время длинного индуктивного темнового периода в результате прерывания темноты, однако в другое время ежедневного цикла высокие уровни P_{dk} могут ускорять цветение. Так, применение ДК (который снижает уровень P_{dk}) в конце основного фотопериода снижает интенсивность цветения семян *Pharbitis nil*. По-видимому, на этой стадии суточного цикла высокий уровень P_{dk} благоприятствует цветению, тогда как через несколько часов темнового периода цветение тормозится, на что указывает эффект прерывания темноты К-светом. Следовательно, цветение КДР, по-видимому, ускоряется высоким уровнем P_{dk} в конце основного фотопериода и ингибируется высоким уровнем P_{dk} позднее в течение темнового периода, что указывает на двойное действие фитохрома в фотопериодической регуляции цветения.

9.4. РЕАКЦИИ ДДР

Как и у КДР, влияние длинного темнового периода на ДДР снимается коротким прерыванием темноты и, следовательно, способствует цветению растений этого типа.

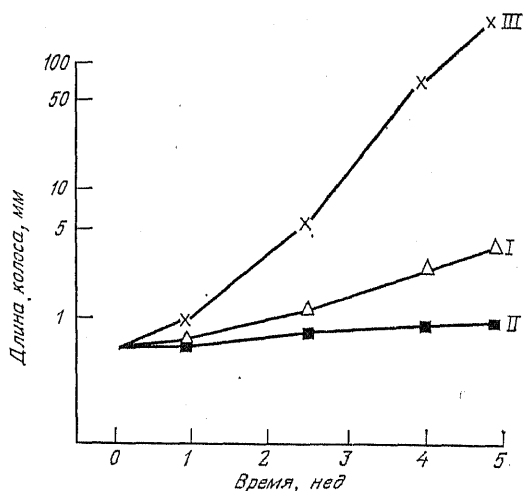


Рис. 9.9. Влияние красного (I), дальнего красного (II) и смешанного (красный+дальний красный; III) света на цветение *Lolium temulentum*. (D. Vincent, Prue, Photoperiodism in Plants, McGraw Hill, London, 1975.)

Растения получали 8 ч дневного света, а затем дополнительно 8 ч света указанных длин волн.

Изучение спектра действия эффекта прерывания темноты у ячменя (*Hordeum*) и белены (*Hyoscyamus*) еще раз показало, что красная область (660 нм) является активной, а под действием дальнего красного у некоторых, но не у всех ДД-видов, происходит обращение эффекта красного света. Однако ДДР менее чувствительны к прерыванию темнового периода, чем КДР, и, хотя 1—2-часовое прерывание светом влияет на некоторые ДДР, реакция носит чисто количественный характер, и для максимального эффекта могут требоваться более продолжительные периоды.

При использовании дополнительного освещения для удлинения естественного фотопериода было обнаружено, что сочетание К- и ДК-света более эффективно для ускорения цветения ДДР, чем один К-свет (рис. 9.9), причем К- и ДК-свет не должен даваться одновременно. Так, у *Lolium temulentum* 8-часовое освещение К-светом для продления дневного фотопериода не индуцировало цветения, но, если К прерывался несколькими часами ДК, растения зацветали. Было установлено, что существует оптимальное время для экспозиции ДК. Это показывает, что возникающий в конце 8-часового естественного фотопериода высокий уровень $P_{дк}$ (обусловленный влиянием К) снижает реакцию цветения, тогда как на более поздних сроках темнового периода высокий уровень $P_{дк}$ благоприятствует цветению, и в

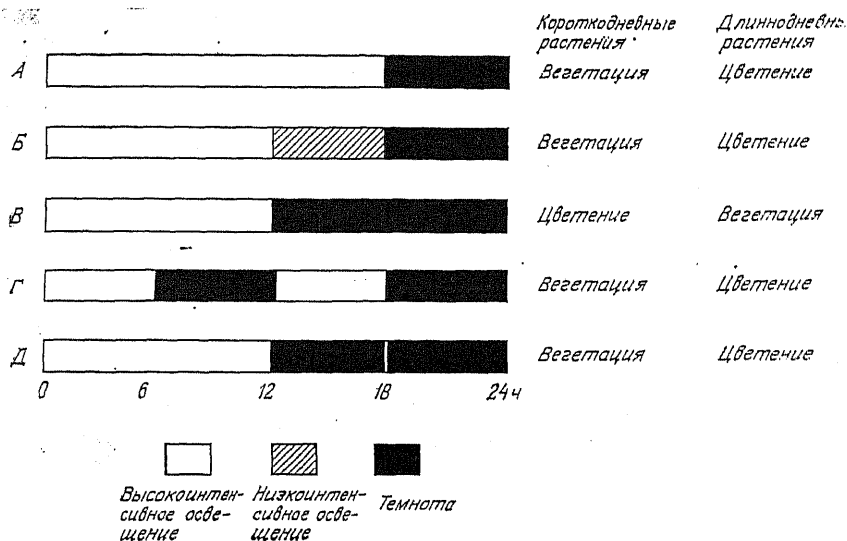


Рис. 9.10. Реакция короткодневных и длиннодневных растений при различных фотопериодических режимах.

это время К ускоряет его. ДК, по-видимому, способствует цветению приблизительно с 6-го часа от начала дневного фотопериода, но примерно после 18 ч эффективность ДК падает, и теперь цветению способствует К-свет. Однако дневные колебания уровня $R_{\text{дк}}$ для ДДР не столь существенны, как для КДР. Следовательно, как и для КДР, высокий уровень $R_{\text{дк}}$ в определенное время ускоряет, а в другое — тормозит цветение, но последовательность ускорения и торможения у КДР и ДДР противоположная. Таким образом, мы видим, что в характере реакций КДР и ДДР есть очень много общего, но некоторые контролируемые фитохромом реакции противоположны; например, длинные темновые периоды ускоряют цветение КДР, но ингибируют его у ДДР (рис. 9.10). Кроме того, в обоих случаях влияние темнового периода снимается его прерыванием, поскольку приводит к появлению высоких уровней $R_{\text{дк}}$. В начале суточного цикла высокие уровни $R_{\text{дк}}$ ускоряют цветение КДР, следовательно, эти растения требуют смену высокого уровня $R_{\text{дк}}$ во время основного фотопериода на низкий уровень $R_{\text{дк}}$ во время последующего длинного темнового периода (рис. 9.11). ДДР наоборот не требует таких суточных колебаний $R_{\text{дк}}$, поскольку они цветут даже при непрерывном освещении (под лампами накаливания, которые обуславливают низкий уровень $R_{\text{дк}}$), но при определенных условиях можно продемонстрировать ежедневные колебания чувствительности к уровням $R_{\text{дк}}$.

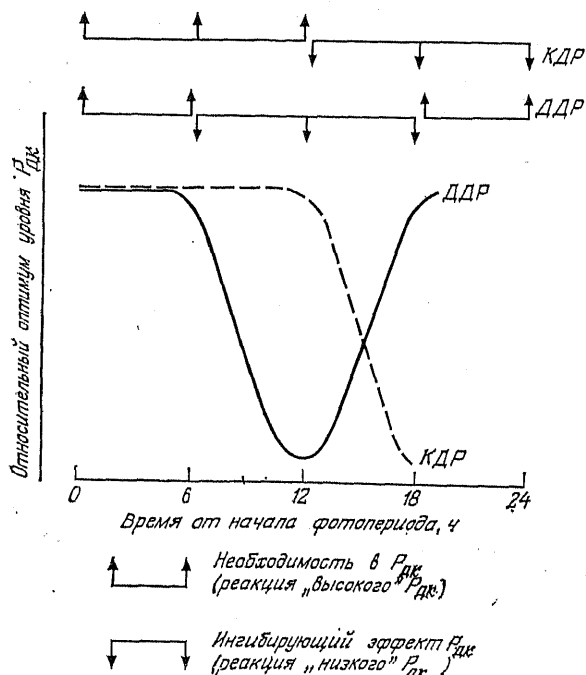


Рис. 9.11. Схематическое представление реакций цветения длиннодневных и короткодневных растений при «высоком» и «низком» РДК. (D. Vince-Prue, Photoperiodism in Plants, McGraw Hill, London, 1975.)

У КДР процесс, нуждающийся в РДК, протекает в начале фотопериода, после чего следует период, когда РДК ингибирует цветение. Реакции ДДР принципиально схожи, но имеют временные различия.

9.5. СТИМУЛ ЦВЕТЕНИЯ

Мы видели, что реакция растения на длину дня зависит от условий, в которых находятся листья, хотя сама эта реакция происходит в меристемах побега. Такое наблюдение сразу же наводит на мысль, что при благоприятных условиях длины дня в листьях образуется какой-то индуцирующий цветение «стимул», который передается в меристемы. Эта гипотеза была предложена М. Х. Чайлахяном вскоре после того, как он пришел к выводу, что воспринимающими органами в фотопериодизме являются листья. Он постулировал, что под влиянием благоприятной длины дня в листьях синтезируется гормон цветения (названный им «флоригеном»), который транспортируется к точкам роста. Как мы сейчас увидим, существуют чрезвычайно обширные данные в пользу этой гипотезы, так что теперь спустя 45 лет после высказывания Чайлахяном своей гипотезы относи-

тельно существования «флоригена» остается только выделить этот гормон в чистом виде и охарактеризовать его. Было выполнено большое число весьма интересных экспериментов по передаче гормона цветения, на которых мы сейчас и остановимся.

Хамнер подтвердил эксперименты Чайлахяна на *Xanthium*. Он показал, что если у растений *Xanthium* удалить все листья, то цветение в условиях короткого дня не наступает, но всего лишь одной восьмой листа достаточно, чтобы растения зацвели (рис. 9.12). В экспериментах на *Xanthium* с раздвоенными побегами было обнаружено, что стимула, образующегося в одном листе, достаточно, чтобы вызвать цветение не только того побега, на котором находится этот лист, но также и второго побега, с которого все листья удалены.

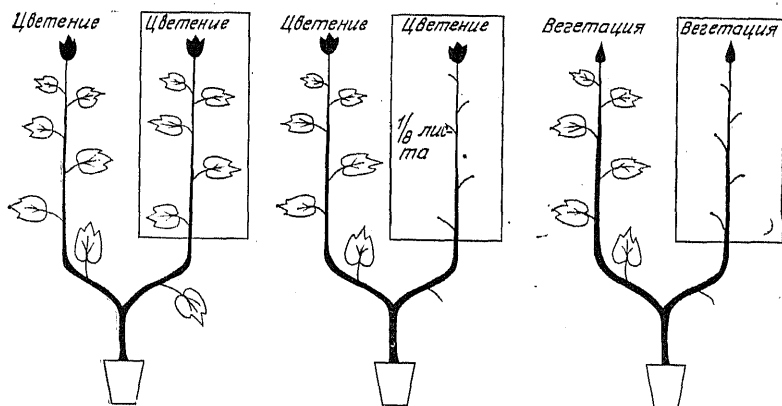
В многочисленных экспериментах было показано, что стимул цветения может передаваться через зону прививки. Так, Хамнер срастил вместе стебли двух растений *Xanthium*, и когда для одного из них были созданы условия короткого дня, то цвело не только это растение, но и привитое, которое не находилось в условиях короткого дня (рис. 9.12). В последующих экспериментах растения *Xanthium* содержали на КД, затем у них удаляли верхушки, а на эти места прививались верхушки от растений *Xanthium*, находившихся в условиях длинного дня. В положенное время ДД-привои зацвели, хотя сами подвергались действию КД.

Еще более поразительный эксперимент был проведен на различных видах, в том числе на *Xanthium* и *Perilla*. С растений-доноров, находившихся на КД, удаляли по одному листу и прививали лист на растения, содержащиеся в условиях длинного дня. В положенное время растения-рецепторы зацветали, свидетельствуя о том, что стимул может передаваться из единственного листа.

На длиннодневных растениях было выполнено значительно меньше прививочных экспериментов, чем на КДР, но полученные результаты, в сущности, схожи.

Результаты рассмотренных выше экспериментов почти не оставляют сомнения в том, что «стимул», по-видимому, имеет гормональную природу, образуется в листьях под влиянием благоприятной длины дня и передается через стебель в апикальные меристемы.

Хотя пока еще не удалось выделить гормон цветения у КДР, мы уже довольно много знаем о времени, необходимом для его синтеза, и о его транспорте в растении. Если растения *Xanthium*, имеющие только по одному листу, подвергнуть действию одного КД-цикла и затем после окончания длинного темного периода в различное время удалять листья, то можно обнаружить, что цветение наступает только у тех экземпляров, у которых листья оставались на растении по крайней мере 2—4 ч



А

Б

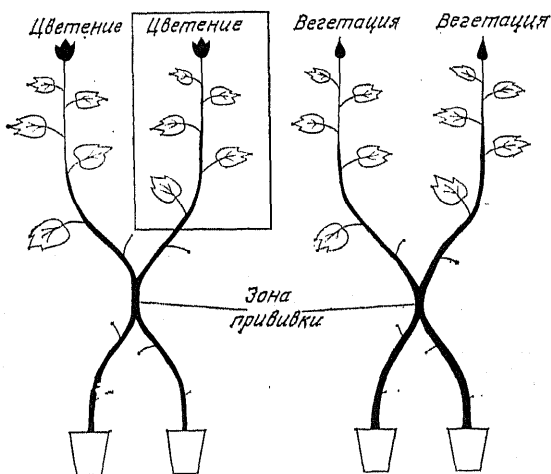


Рис. 9.12. Вверху. Растения *Xanthium*, имеющие две ветви. Одна из ветвей находилась в условиях короткого дня, а остальная часть растения находилась в условиях длинного дня. Оба растения цвели, если побег, находившийся на коротком дне, имел по меньшей мере $\frac{1}{8}$ листа. При полном удалении листьев цветение не наступало (справа).

Внизу. А. Два растения *Xanthium* привиты методом сближения. Верхушка одного из растений подверглась действию короткого дня, тогда как другое растение находилось в условиях длинного дня. Оба растения цвели. Б. Оба растения находились в условиях длинного дня; при этом ни одно из них не цвело (К. С. Hamner, Cold Spring Harbor Symp., 10, 49, 1942.)

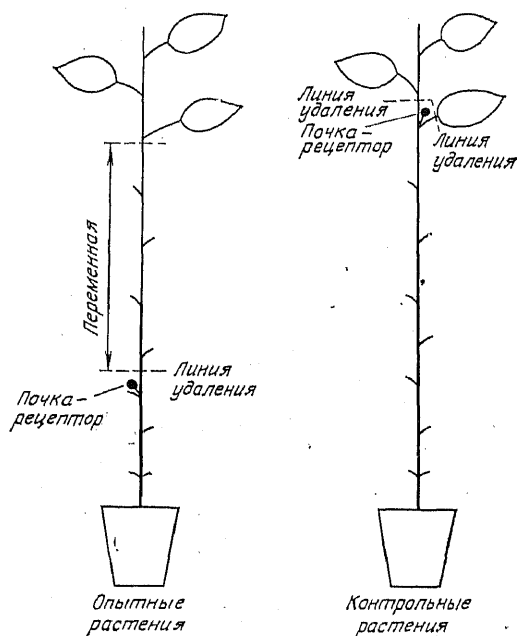


Рис. 9.13. Растения *Pharbitis* различной высоты были декапитированы выше полностью развернувшегося верхнего листа, и все листья, кроме трех верхних, были также удалены. В группе опытных растений были удалены все пазушные почки, кроме одной почки-рецептора в основании стебля. У контрольных растений также была оставлена только одна почка, но в пазухе самого нижнего листа-донора. Растениям был дан один темновой период продолжительностью от 14 до 16 ч для различных групп, по окончании которого все листья и стебли выше почек-рецепторов удаляли. Если листья удаляли спустя 14 ч после начала темнового периода, то ни в одной из групп растений не наблюдалось образования генеративных почек. Однако если листья-доноры удаляли через 16 ч после начала темнового периода, то у многих растений независимо от длины стебля между листом-донором и почкой-рецептором начиналось образование цветочных почек. При наибольшей длине стебля (102 см) между нижним листом-донором и почкой-рецептором, оставленной в основании побега, было образовано два цветка. Поскольку контрольные растения, получившие 14-часовой темновой период, не цвели, стимул цветения должен был пройти по стеблю 102 см за последние 2 ч при 16-часовом темновом периоде, достигая скорости движения более чем 51 см/ч. (G. Takeba, Takimoto, Bot. Mag., Tokyo, 79, 811—814, 1966.)

после окончания темнового периода. Однако наибольшей реакции цветения можно добиться, если оставить листья на 1—2 дня. Следовательно, движение гормона из листьев — процесс медленный. Представляется вероятным, что транспорт гормона осуществляется через живые ткани, по-видимому, по флоэме, так как если зону стебля между листом и апикальной частью обработать паром, транспорт прекращается. Гормон может транспортироваться и по другим живым тканям.

Были сделаны попытки измерить скорость транспорта гормона. Один из методов заключался в использовании растений *Pharbitis* с раздвоенными побегами, у которых единственный лист-донор на одном из побегов подвергался действию условий КД; затем учитывалось время начала цветения второго побега (находящегося на ДД) в зависимости от разных расстояний между листом-донором и почкой-рецептором. Согласно данным, полученным такими, по-видимому, весьма косвенными методами, можно полагать, что скорость движения гормона намного меньше (2—4 мм/ч), чем обычная скорость перемещения сахаров по флоэме. Однако в экспериментах на *Pharbitis* были получены другие данные, свидетельствующие о более быстром транспорте (рис. 9.13). Согласно этим данным, стимул цветения переместился на расстояние 102 см за 2 ч, т. е. со скоростью 51 см/ч, что соизмеримо со скоростью движения ассимилятов по флоэме.

9.6. УСТОЙЧИВОСТЬ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ ИНДУКЦИИ ЛИСТЬЕВ

Как мы видели, для зацветания короткодневных растений они не обязательно должны постоянно находиться в условиях короткого дня. После определенного числа благоприятных фотопериодических циклов КД-растения зацветут, даже если их перенести в условия длинного дня. Так, например, *Xanthium* в конечном итоге зацветает в ответ и на один КД-цикл, даже если после него следует значительное число ДД-циклов. Следовательно, некоторые виды проявляют выраженную фотопериодическую «устойчивость», иными словами, растения становятся «индуцированными» после получения КД.

Такая устойчивость благоприятных фотопериодических циклов, очевидно, обусловлена каким-то свойством листьев, которые, по-видимому, продолжают вырабатывать «гормон цветения» даже после перевода растений на неблагоприятные условия длины дня. Таким образом, индуцированная реакция растения в целом отражает индуктивные изменения, происходящие в листьях. Это заключение подтверждается многочисленными экспериментами. Так, например, в экспериментах Лона один лист периллы подвергался действию КД, а остальные листья оставались при этом в условиях ДД. После периода КД-воздействия лист в течение 4 нед находился на ДД, а затем был удален и привит на вегетирующее растение периллы, которое в положенное время зацвело. Следовательно, лист «помнил» предыдущее КД-воздействие, несмотря на то что в период между последним КД-циклом и прививкой на растение-рецептор получил 4-недельное воздействие ДД. Что же лежит в основе проявляемой листьями устойчивости?

Для объяснения устойчивости были предложены две теории. Согласно предположению М. Х. Чайлахяна, под влиянием благоприятных условий в листе накапливается гормон цветения, который расходуется постепенно в течение длительного периода даже при неблагоприятных условиях. Другой советский исследователь Б. С. Мошков предположил, что под влиянием благоприятной длины дня в метаболизме листа происходят *стойкие* изменения, в результате чего он продолжает активно *синтезировать* гормон цветения даже после перенесения в условия неблагоприятного фотопериода. Имеющиеся в нашем распоряжении данные говорят в пользу теории Мошкова. В самом деле, кажется маловероятным, чтобы в описанном выше эксперименте Лона в листе, получившем КД-воздействие и после этого находившемся в условиях ДД в течение 4 нед, гормон цветения оставался в количестве, все еще достаточном для индукции цветения вегетирующего растения, на которое этот лист был привит.

Еще более веские данные в пользу того, что листья под влиянием благоприятной длины дня приобретают устойчивые изменения, получены в некоторых экспериментах Зиварта. В одном из таких экспериментов растения периллы вначале подвергали действию 40 КД-циклов, а затем листья были привиты на вегетативные растения, выращиваемые в условиях ДД. Каждые 14 дней 10 из этих листьев удаляли и перепрививали на новую группу вегетативных растений. Было установлено, что листья продолжали индуцировать цветение каждой новой группы вегетативных подвоев, на которые они прививались (рис. 9.14). Даже в пятой группе, где растения находились на ДД в течение 10 нед, не наблюдалось ослабления реакции цветения. В другом эксперименте индуктивная способность листьев не снижалась после 7 таких прививок, хотя с момента получения листьями КД прошло более трех месяцев. Таким образом листья периллы, по-видимому, приобретают устойчивое индуцированное состояние.

Установлено, что у растений периллы состояние индукции строго локализовано в пределах растения и даже в пределах отдельных листьев. Так, если одну пару листьев периллы подвергнуть действию ряда КД-циклов, а остальную часть растения содержать в условиях ДД, то оказывается, что только листья, непосредственно получившие КД-воздействие, способны индуцировать цветение у растений, на которые они привиты (рис. 9.14). В других экспериментах, проведенных Лона, в условиях КД находились лишь половины каждого листа, а другие половины получали ДД. Затем листья разделяли продольно и половинки прививали по отдельности на вегетативные растения-рецепторы. Цветение вызывали лишь те половинки, которые непосредственно подвергались действию КД.

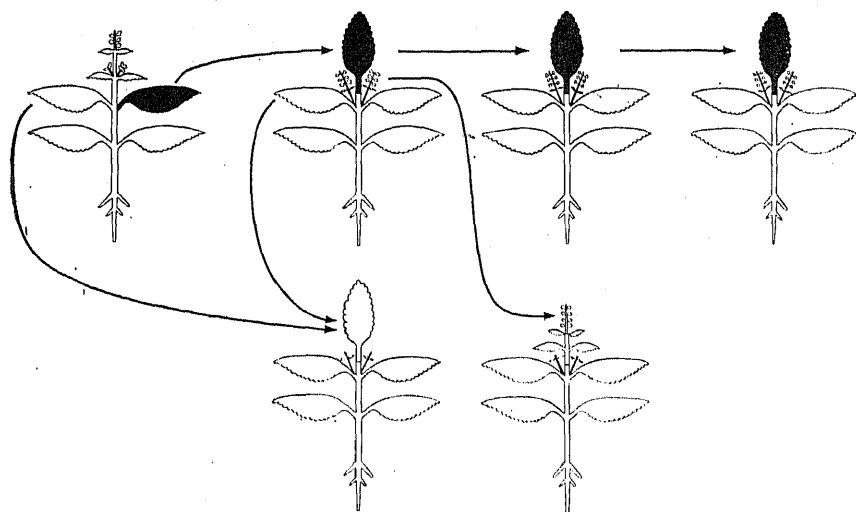


Рис. 9.14. Устойчивость индуцированного состояния листьев периллы (см. текст). (A. Lang, *Encycl. Plant Physiol.*, 15(1), 1965.)

Черным отмечены листья, находившиеся в условиях короткого дня, светлым — листья, находившиеся в условиях длинного дня. Лист, непосредственно получивший короткодневное воздействие, будет индуцировать цветение у растений-рецепторов, на которые он последовательно перепрививается. Неиндуцированные листья того же растения, или растения-рецептора, или же цветущие побеги последнего не вызывают цветения.

Однако у *Xanthium* наблюдается иная ситуация. Если один лист с цветущего растения *Xanthium* (А) привить на вегетативное растение (Б), растущее на длинном дне, то оно, как уже отмечалось, зацветет. Если с растения Б взять другие молодые листья, которые непосредственно никогда не подвергались действию КД, и привить их на другие вегетирующие растения В, то эти последние также зацветут. Следовательно, листья растения Б приобрели индуцированное состояние в результате прививки индуцированных листьев от растения А, хотя эти листья растения Б никогда не находились в условиях КД. Такой эффект был назван *вторичной индукцией*; вероятно, этим объясняется то, что *Xanthium* не возвращается в вегетативное состояние после перевода его с КД на ДД, поскольку все вновь образующиеся листья становятся вторично индуцированными. У периллы листья, образовавшиеся после перевода растения с КД на ДД, не индуцируются и, по-видимому, подавляют эффект стимуляции цветения, вызываемый старыми листьями, индуцированными предварительным КД-воздействием (см. ниже). В результате этого растение возвращается в вегетативное состояние. *Xanthium* и *Perilla* характеризуются заметной устойчи-

востью фотопериодической индукции листьев, однако не ясно, насколько широко распространено это явление в мире растений. У сои и ряда других видов, получивших минимальное число КД-циклов, а затем находящихся в условиях ДД, несомненно, происходит возврат в вегетативное состояние, но обусловлено ли это «деиндукцией» листьев, получивших КД, или образованием новых, неиндуцированных листьев, как у периллы, неизвестно.

Как отмечает Зиварт, в связи с устойчивой индукцией листьев необходимо различать два явления:

1) *индуцированное состояние* (т. е. способность вырабатывать флоральный стимул), постепенно возникающее под влиянием благоприятной длины дня, которое необратимо и строго локализовано у некоторых растений;

2) *флоральный стимул*, который способен к передвижению из индуцированных листьев к точкам роста, где он оказывает морфогенетический эффект.

9.7. ЕСТЕСТВЕННОЕ ТОРМОЖЕНИЕ ЦВЕТЕНИЯ

На основе ряда данных можно предположить, что у фотопериодических растений цветение может не только ускоряться, но и тормозиться. Так, если у сои или периллы, имеющих двойные побеги, одну из ветвей подвергнуть действию КД, а другую — ДД, то последняя не зацветет до тех пор, пока все листья у нее не будут удалены. Иными словами, стимул цветения ветви-донора не оказывает влияния на ветвь-рецептор в присутствии ДД-листьев. Аналогичный результат будет получаться в том случае, если привой от вегетативного растения периллы привить на подвой, который до этого находился в условиях КД: привой зацветет только после удаления его листьев. Следовательно, у некоторых КД-видов ДД-листья оказывают ингибирующее влияние на цветение.

Ингибирующее действие ДД-листьев проявляется только тогда, когда они оказываются между апексом побега и источником стимула цветения. Например, если один лист каланхоэ подвергнуть действию КД, а остальные содержать на ДД, наличие ДД-листьев между КД-листом и апексом побега будет препятствовать цветению, но если все листья *выше* КД-листа удалить, оставив лишь расположенные ниже его ДД-листья, то растение зацветет. Ингибирующее действие ДД-листа проявляется особенно сильно, если он находится сразу же над КД-листом (т. е. на той же ортостихе). ДД-листья, расположенные на противоположной по отношению к КД-листу стороне стебля, оказывают более слабый ингибирующий эффект.

Было высказано предположение, что ингибирующий эффект неиндуцированных листьев можно объяснить с точки зрения препятствия перемещению гормона цветения, который, как принято считать, движется с основным током ассимилятов. Наибольшее количество ассимилятов в апикальную зону поступает от самых верхних зрелых листьев. Если последние являются КД-листьями, то они будут поставлять гормон цветения и ассимилянты в апекс побега, но если между апексом и КД-листьями расположены ДД-листья, то поступление как ассимилятов, так и гормона цветения от КД-листьев уменьшится. Однако в одной из недавних работ Ланг получил убедительные данные, что в неиндуцированных листьях некоторых видов образуется способный к передвижению ингибитор цветения. Так, когда побеги длиннодневных растений *Nicotiana glauca* и *Hyoscyamus niger* прививались боковой прививкой на стебель нейтрального культивара табака *Tapezond*, последний цвел только в том случае, если привитые растения содержались в условиях длинного дня, под воздействием же условий короткого дня как у привоя, так и у подвоя цветение ингибировалось (рис. 9.15), хотя контрольные растения цвели в условиях короткого дня.

В этом последнем эксперименте мы, по-видимому, сталкиваемся с положением, в котором перемещающийся ингибитор противодействует влиянию стимула цветения в апексе побега. Другая ситуация наблюдается, когда происходит ингибирование образования стимула в листе, подвергнутом попеременному действию индуктивных и неиндуктивных фотопериодов. Так, когда КД-растение каланхоэ подвергается попеременному действию двух КД- и одного ДД-циклов, цветение полностью ингибируется, а анализ этого факта показывает, что влияние промежуточного ДД-цикла не просто «нейтрально», а безусловно ингибирует цветение. Из этого примера следует, что мы, по-видимому, имеем дело с ингибирующим эффектом ДД в пределах самого листа, а не с экспортом ингибитора цветения в апекс побега.

Явление ингибирования цветения отмечено также и у ДД-растений, поскольку, как мы видели, у этих растений длинный темновой период оказывает ингибирующее влияние. Однако представляется вероятным, что механизм ингибирования в этом случае отличается от механизма, действующего в листьях КДР, когда они выдерживаются на ДД.

Возникает вопрос, если у КДР и ДДР существуют процессы, ингибирующие цветение, то не следует ли предположить наличие процессов, активно стимулирующих цветение? Не может ли зацветание КД-растений при перенесении их в условия КД быть связано в первую очередь с прекращением процесса ингибирования, происходящего под влиянием ДД? Если это так, то нам нет необходимости предполагать существование

иллюзорного «гормона цветения». Однако большинство исследователей в этой области считают, что другие экспериментальные данные отчетливо свидетельствуют о существовании как процессов, стимулирующих цветение, так и процессов, ингибирующих его. Поэтому тот факт, что один лист, взятый от цветущего растения *Xanthium*, будет индуцировать цветение у вегетативного растения, содержащегося в условиях ДД, трудно объяснить с точки зрения простого снятия ингибирования у растения-рецептора. Следовательно, вероятнее всего, что регуляция цветения как у КДР, так и у ДДР включает взаимодействие двух процессов — стимулирования и ингибирования цветения.

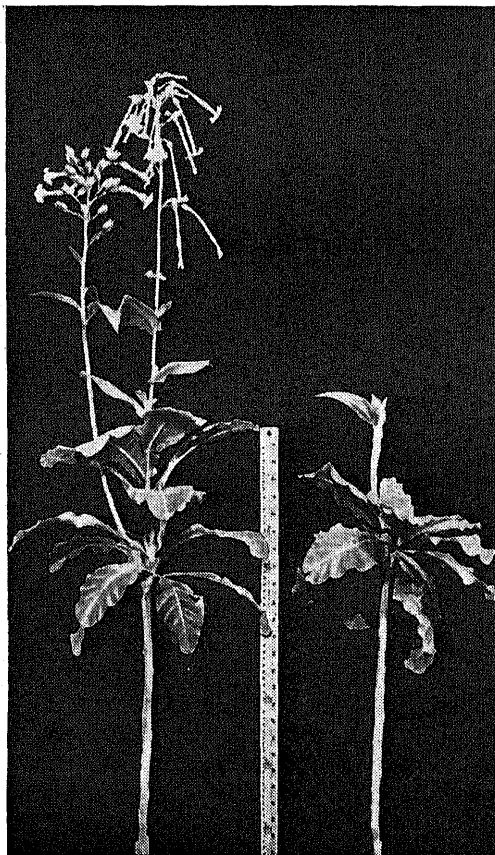


Рис. 9.15. Реакция цветения нейтрального табака сорта Trapezond после прививки на него длиннодневного растения *Nicotiana silvestris* в условиях ДД (слева) или КД (справа). У побегов-рецепторов Trapezond листья удалены. (А. Lang, М. С. Chailakyan, I. А. Frolova, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 74, 2412, 1977.)

9.8. ИЗМЕРЕНИЕ ВРЕМЕНИ В ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ

Мы видели, что зацветание КДР происходит, когда они находятся в таких условиях длины дня, при которых длина ночи превышает критический темновой период, и что некоторые растения могут воспринимать колебания продолжительности темнового периода, не превышающие 15 мин. Так, для *Xanthium* при 25°C характерен критический темновой период, составляющий 8 $\frac{1}{4}$ ч. Разница в продолжительности всего лишь в 15 мин определяет, зацветет ли сахарный тростник или нет. Совершенно очевидно, что эти виды обладают довольно точным механизмом измерения времени. В отношении природы этого механизма было сделано несколько предположений.

Так, «часы» могут быть «песочного» типа, когда время измеряется по накоплению или расходованию какого-то определенного вещества до некоторой пороговой величины. Поскольку для цветения КДР необходимо, чтобы фитохром в листьях был в форме P_K , переход которого из формы P_{DK} осуществляется постепенно в первые часы темноты (с. 333), предполагается, что критический темновой период может представлять собой время, необходимое для снижения уровня P_{DK} до определенного уровня. Однако было обнаружено, что реакция $P_K \rightarrow P_{DK}$ успешно завершается в течение 2—3 ч темноты, тогда как критический темновой период у *Xanthium* составляет 8 $\frac{1}{4}$ ч.

К тому же если длина критического темнового периода определяется временем, необходимым для перехода P_{DK} в P_K , то облучение дальним красным в начале темнового периода должно значительно снижать длину критического темнового периода для цветения КДР за счет ускорения конверсии P_{DK} в P_K ; однако это не характерно для всех растений и обнаружено лишь у одного из исследованных в этом плане видов. По этим и другим причинам представляется маловероятным, что скорость перехода P_{DK} в P_K служит фактором, определяющим длину критического темнового периода у КДР. Поэтому мы вынуждены рассмотреть другие гипотезы, касающиеся механизма измерения времени, и среди них гипотезу эндогенного ритма Бюннинга.

9.9. ЭНДОГЕННЫЕ РИТМЫ В ФОТОПЕРИОДИЗМЕ

Прошло много лет с тех пор, как Бюннинг впервые обратил внимание на существование у растений устойчивых ритмов. Он исследовал суточные движения листьев фасоли (*Phaseolus*), у которой первые листья поднимаются с началом дня, а позднее, ближе к вечеру, опускаются, достигая минимального положения ночью; с наступлением утра они опять начинают

подниматься. Такие движения происходят вследствие изменения тургора в листовых подушечках.

Итак, если проросток фасоли подвергнуть действию определенного периода дневного света, а затем держать в непрерывной темноте в течение нескольких дней, то он будет продолжать типичные суточные движения, поднимаясь и опускаясь с 24-часовым циклом, хотя сам он уже не подвергается действию естественного чередования света и темноты. Следовательно, растение фасоли проявляет устойчивый эндогенный ритм, выраженный в движении листьев. Если графически изобразить изменение положения листа в зависимости от времени, то мы получим синусоидальную кривую. По мере удлинения темного периода амплитуда движений постепенно уменьшается до нуля. После этого растение вновь необходимо подвергнуть действию света для восстановления ритма.

С момента обнаружения ритмических движений листьев было установлено, что многие процессы в растении подчиняются регулярной суточной ритмичности. К таким процессам относятся:

1. Открывание и закрывание цветков.
2. Корневое давление.
3. Скорость роста.
4. Дыхание и другие метаболические процессы.
5. Активность некоторых ферментов.
6. Митоз и изменение размера ядра.
7. Рассеивание спор у грибов, например у *Pilobolus*.

Продолжительность одного цикла эндогенного ритма при его «свободном течении» в темноте не обязательно точно равна 24 ч. Важно, чтобы в естественных условиях эндогенный ритм растения был синхронизирован с суточным циклом дня и ночи, и это достигается путем «подведения» эндогенного ритма под естественные день и ночь. Хотя ритмы и являются эндогенными в том смысле, что, раз начавшись, они могут продолжаться в течение нескольких дней даже в полной темноте, тем не менее многие такие ритмы требуют стимула в виде смены темноты светом или, наоборот, для «подталкивания». Следовательно, синхронизация между эндогенным ритмом и естественной сменой дня и ночи достигается за счет ежедневного подведения ритма путем «включения» сигнала на рассвете и его «выключения» с наступлением сумерек.

Итак, не может быть сомнений в существовании эндогенных ритмов у растений. Далее Бюннинг постулирует, что существует также эндогенный ритм фотопериодической чувствительности, и формулирует теорию фотопериодизма, основанную на этом эндогенном ритме. Он предположил, что в течение дня КДР находятся в «фотофильной» фазе, когда свет благоприятствует цветению, а в течение ночи — в «скотофильной» фазе,

когда темнота благоприятствует цветению, а свет его ингибирует. Поэтому мы должны рассматривать регулярный ритм фотопериодической чувствительности как вхождение растения сначала в фотофильную фазу, а затем в скотофильную. Постулировалось также, что КДР будут цвести только в том случае, если ежедневные световые и темновые периоды соответствуют фотофильной и скотофильной фазам растений, т. е. когда они находятся на КД. В условиях ДД свет будет «заходить» в скотофильную фазу и ингибировать цветение. Объяснить реакции ДДР на основе этой теории значительно труднее, и такие реакции могут быть обратными по сравнению с реакциями КДР.

Теория Бюннинга подвергалась некоторой критике и проверке в различных экспериментах, причем не все полученные результаты совпали с предсказаниями этой теории. Тем не менее в настоящее время не вызывает сомнения факт существования эндогенного ритма фотопериодической чувствительности, по крайней мере для некоторых видов. Наличие этого ритма было продемонстрировано различными способами.

Так, Хамнер выращивал растения сои при широком варьировании продолжительности цикла; каждое растение получало 8 ч света с последующим темновым периодом, длина которого изменялась от 8 до 62 ч. Максимальное цветение наблюдалось в том случае, если общая продолжительность цикла составляла 24 ч или кратное этому число, т. е. 48, 72 ч, но растения оставались вегетативными, когда суммарная длина цикла составляла 36 или 60 ч (рис. 9.16). Эти результаты наводят на мысль, что световые и темновые процессы у сои приспособлены к 24-часовому циклу, так что, когда продолжительность цикла составляет 24, 48 или 72 ч, эндогенные «фотофильная» и «скотофильная» фазы совпадают с внешними световыми и темновыми периодами, но, когда растения находятся на 36- или 60-часовых циклах, фазы не совпадают с эндогенным ритмом растения, и цветение не наступает. Было также обнаружено, что вегетативные растения томата росли лучше, если продолжительность цикла составляла 24 ч или кратное этому число, но были в угнетенном состоянии при продолжительности циклов 36 или 60 ч. В то же время другие виды, в том числе каланхоэ и дурнишник, не проявляют выраженной реакции на варьирование продолжительности цикла.

Иной подход к изучению эндогенных ритмов в фотопериодизме заключался в кратковременных прерываниях светом («прерывание ночи») длинного темнового периода, которые делались в разное время, чтобы установить, существуют ли ритмические изменения в фотопериодической чувствительности, проявляющиеся в реакции цветения. Эксперимент проводился с растениями, содержащимися на 48- или 72-часовых циклах, в которых после короткого фотопериода (10 ч) прерывание тем-

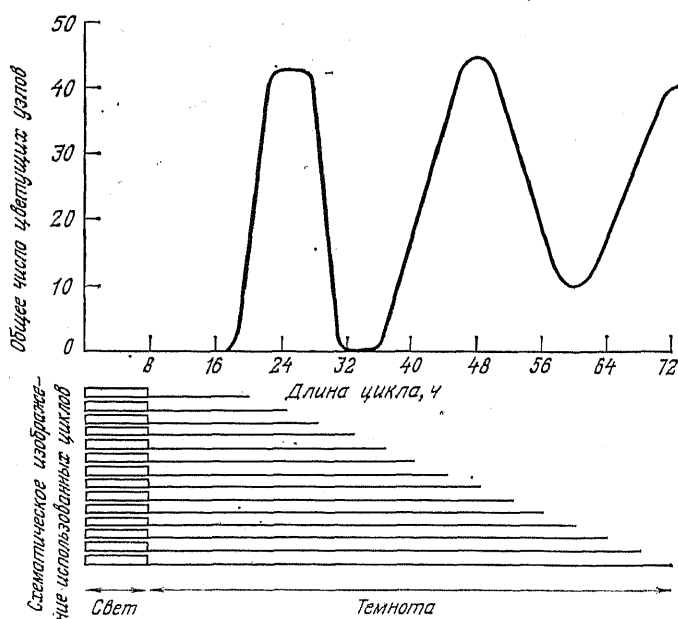


Рис. 9.16. Реакция цветения фасоли Билокси на циклы различной длины. (По К. Hamner, *Environmental Control of Plant Growth*, Academic Press, New York, 1963.)

Растения получали по семь циклов. Каждый цикл состоял из 8-часового освещения светом высокой интенсивности (1000—1500 фут-свечей; 1 фут-свеча = 10,8 лк) и темнового периода различной длины. Получена зависимость общего числа цветущих узлов у 10 растений от длины цикла.

ноты делалось в различное время последующего 38- или 62-часового темнового периода. У сон и *Chenopodium rubrum* такие прерывания темноты ингибируют цветение в начале и в конце 38-часового темнового периода, что соответствует скотофильной фазе, постулированной Бюннингом. Для 62-часового темнового периода были обнаружены три фазы ингибирования, соответствующие опять же трем предсказанным скотофильным фазам в 72-часовом цикле (рис. 9.16 и 9.17).

Таким образом, результаты, полученные с помощью двух различных подходов, свидетельствуют о том, что у определенных видов действительно существует эндогенный ритм фотопериодической чувствительности, сходный с постулированным Бюннингом. Однако на других видах были получены другие результаты. Так, хотя прерывание темноты во время длинного темнового периода выявляет ритмичность у каланхоэ, продолжительность цикла лишь в незначительной степени влияет на цветение этого вида. Данные, полученные в сходных экспериментах на *Pharbitis nil*, с большим основанием позволяют го-

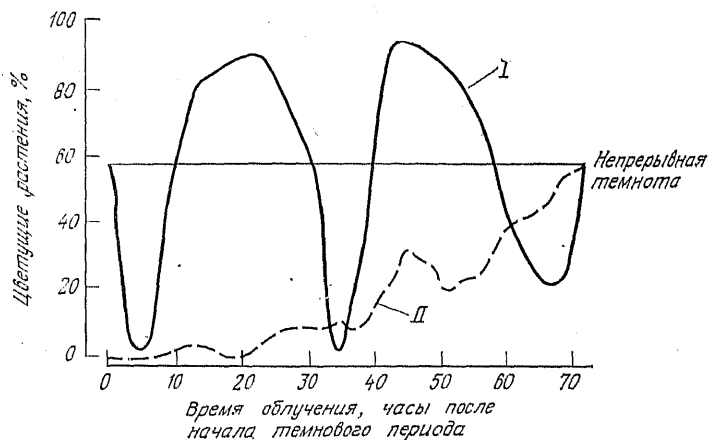


Рис. 9.17. Цветение *Chenopodium rubrum* при одном 72-часовом темновом периоде, прерывавшемся в различное время красным светом (I) на 4 мин или интенсивным дальним красным (II) на 10 с. (D. Vince-Prue (1975), по B. G. Cumming, S. B. Hendricks, H. A. Borthwick. Can. J. Bot., 43, 825, 1965.)

ворить о наличии «песочных часов», чем о наличии фотопериодической ритмичности.

Бюннинг, естественно, предположил, что фотопериодический цикл запускается с рассветом, который начинает осцилляцию, и что скотофильная фаза продолжается 12 ч после этого «включения» светового сигнала. Однако впоследствии экспериментальные данные показали, что у некоторых видов осцилляция устанавливается в результате их перемещения со света в темноту, т. е. путем «выключения» светового сигнала. Есть некоторые данные, что фитохром участвует в реакции «выключения» сигнала. Например, у *Lemna perpusilla* эндогенный ритм в выработке углекислого газа устанавливается «выключением» светового сигнала в конце периода красного света, и К/КД-взаимообращаемость была продемонстрирована для световой фазы.

Представленные данные, по-видимому, не вызывают сомнения в том, что некоторые растения проявляют эндогенный ритм фотопериодической чувствительности. Однако все ли виды, проявляющие фотопериодическую реакцию, обладают таким ритмом, остается пока неясным. Так, эндогенные ритмы могут модифицировать фотопериодические реакции у некоторых видов, но не могут быть универсальным фактором, обуславливающим фотопериодизм у растений. Более того, ритмичность, обнаруженная в описанных выше экспериментах, вовсе не доказывает правильность теории Бюннинга в отношении фотофильной и скотофильной фаз.

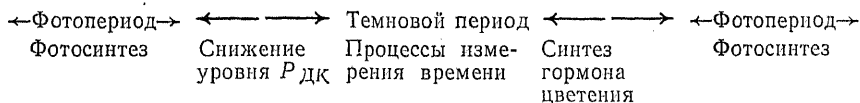
Ясно, что существование эндогенных ритмов подразумевает существование определенного типа «осцилляторного» механизма в растении, но природа этого осциллятора все еще полностью не установлена. Однако такой осциллятор может служить механизмом, измеряющим время, или физиологическими часами, но действительно ли такой измеряющий время механизм включен в фотопериодизм, до настоящего времени неизвестно.

9.10. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПРОЦЕССОВ, ВЕДУЩИХ К СИНТЕЗУ ГОРМОНА

Итак, можно выделить определенное число частных процессов, приводящих к образованию стимула цветения у КДР, и теперь мы можем подвести итог состоянию наших знаний в отношении последовательности и взаимодействия этих процессов.

Во-первых, необходима высокоэнергетическая реакция (фотосинтез), которая протекает во время фотопериода и которая является источником энергии и субстратов для процессов, происходящих во время последующего темнового периода. Однако имеются основания полагать, что эффекты фитохрома также включены в фотопериод, поскольку цветение КДР, таких, как каланхоэ (*Kalanchoë blossfeldiana*), при содержании в непрерывной темноте продолжительное время *стимулируется* ежедневным коротким периодом освещения красным светом; это наводит на мысль, что минимальный уровень R_{dk} во время фотопериода необходим для цветения. Обычно в конце фотопериода концентрации R_k и R_{dk} приблизительно равны. В первые несколько часов темнового периода уровень R_{dk} снижается, в результате чего повышается уровень R_k . Синтез гормона цветения начинается лишь спустя определенный минимальный темновой период (критический темновой период), а затем в последующие несколько часов протекает довольно быстро. Для продолжения синтеза гормона цветения, по-видимому, необходимо, чтобы фитохром был в форме R_k , поскольку короткие прерывания красным светом (который обращает R_k в R_{dk}) подавляют цветение. Однако начало синтеза гормона, очевидно, не регулируется снижением уровня R_{dk} , так как продолжительность критического темнового периода в значительной степени превышает время, необходимое для снижения уровня R_{dk} . Следовательно, должен существовать какой-то измеряющий время механизм, который непосредственно регулирует начало синтеза гормона. Мы видели, что измеряющий время механизм включает эндогенный ритм каких-то неизвестных процессов и что роль фитохрома в цветении может в большей степени проявляться через влияние на процессы измерения времени, а не через влияние на процессы синтеза гормона цвете-

ния. В суммарном виде эту идею можно выразить следующим образом:



ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Bünning E., 1967. The Physiological Clock, Academic Press, New York.
 Evans L. T. (ed.), 1969. Induction of Flowering, MacMillan, New York and London.
 Vince-Prue D., 1975. Photoperiodism in Plants, McGraw-Hill, London.
 La Physiologie de la Floraison, 1979. Editions du Centre Nationale de la Recherche Scientifique, Paris.

Специальная литература

- Bernier G., 1970. Cellular and Molecular Aspects of Floral Induction, Longmans, London.
 Evans L. T. (1971). Flower induction and the florigen concept, Ann. Rev. Plant Physiol., 22, 365.
 Hillman W. S., 1976. Biological rhythms and physiological timing, Ann. Rev. Plant Physiol., 27, 159.
 Hoskikazi T., Hamner K. C. (1969). Interaction between light and circadian rhythms in plant photoperiodism, Photochem. Photobiol., 10, 87.
 Lang A., 1965. Physiology of flower initiation, Encycl. Plant Physiol., 15 (1), 1380.
 Naylor A. W., 1961. The photoperiodic control of plant behavior, Encycl. Plant Physiol., 16, 331.
 Zeevaart J. A. D., 1976. Physiology of flower formation, Ann. Rev. Plant Physiol., 27, 321.

Глава 10

Физиология цветения: температура и другие факторы

10.1. ЯРОВИЗАЦИЯ

Фотопериодические реакции на сезонные изменения длины дня имеют значение для периодичности цветения многих видов как умеренных, так и тропических областей. Однако следует отметить, что среди видов умеренных широт, проявляющих фотопериодические реакции, относительно мало весеннецветущих, хотя мы постоянно сталкиваемся с тем, что значительное число «цветов цветет весной», и многие из таких весеннецветущих форм, например *Ficaria verna*, первоцвет (*Primula vulgaris*), фиалки (виды рода *Viola*) и т. д., проявляют выраженное сезонное поведение, оставаясь вегетативными оставшуюся часть года после обильного весеннего цветения. Можно предположить, что весеннее цветение — реакция на короткие дни зимой, но для многих видов, это, по-видимому, не так.

Конечно, длина дня не является единственным внешним фактором, изменяющимся в течение года. Ясно, что и температура также характеризуется четко выраженными сезонными изменениями, особенно в умеренных областях, хотя в отношении этого фактора наблюдаются значительные колебания, как ежедневные, так и ежегодные. Мы знаем, что сезонные изменения температуры, так же как и изменения длины дня, оказывают существенное влияние на цветение многих видов растений.

Впервые мысль о ключевой роли температуры в регуляции цветения появляется в исследованиях Гаснера в 1918 г., посвященных цветению культивируемых сортов зерновых. Зерновые, такие, как пшеница и рожь, можно разделить на две группы в зависимости от того, сеются ли они осенью (озимые сорта) или весной (яровые сорта). Озимая пшеница, посеянная осенью, или яровая, посеянная весной, будут цвести и созреют текущим летом. Однако, если озимую пшеницу посеять весной, то колос не образуется, и растения останутся вегетативными в течение всего сезона. По-видимому, необходимость осеннего посева озимой пшеницы связана не просто с удлинением срока ростового сезона, поскольку посеянные осенью растения характеризуются относительно слабым ростом в течение зимы, а посеянные весной они не уступают в вегетативном развитии, хотя и не цветут.

Гаснер исследовал влияние различных температурных режимов во время прорастания и раннего роста озимой и яровой ржи. Он высевал семена в песок в различные сроки начиная с 10 января по 3 июля и подвергал их во время прорастания воздействию следующих температур: 1—2, 5—8, 12 и 24 °С. Затем проростки были высажены в открытый грунт. Оказалось, что температура во время прорастания не влияет на последующее цветение яровой ржи, и все высаженные в одно время проростки цвели приблизительно в одинаковые сроки независимо от температурной обработки во время проращивания. Однако у озимой ржи цвели только те растения, семена которых проращивались при температуре 1—2 °С независимо от времени высадки растений в открытый грунт. Проростки семян, проращивавшихся при температурах выше 1—2 °С, зацветали лишь в том случае, если были высажены не позднее конца марта — начала апреля, т. е. имели возможность получить некоторое естественное охлаждение в открытом грунте (в климатических условиях Центральной Европы). Гаснер пришел к заключению, что для яровой ржи температурные условия во время ранних периодов роста не оказывают влияния на цветение, тогда как цветение озимой ржи зависит от прохождения периода охлаждения во время прорастания семян или позднее (рис. 10.1).

Эта работа Гаснера была позднее продолжена в СССР и именно здесь получила основное развитие, особенно в связи с



Рис. 10.1. Влияние яровизации на цветение озимой ржи сорта Petkus. (O. N. Purvis, *Ann. Bot.*, 48, 919, 1934.)
Слева. Растения, содержащиеся в течение нескольких недель после прорастания при температуре 1 °С. *Справа.* Растения, развившиеся из неяровизированных семян.

возможностью получения экономического эффекта. Суровые зимы во многих районах СССР не позволяют производить осенний посев озимых сортов пшеницы, которые обычно более урожайны, чем яровые. Разработанный Лысенко метод позволял проводить необходимую озимой пшенице холодовую обработку, что давало возможность сеять ее весной. Метод заключался в частичном замачивании семян, так чтобы набухание было достаточным для слабого роста зародыша, но не приводило к полному прорастанию. В таком состоянии семена озимой пшеницы подвергались холодовой обработке путем помещения их в снег; в результате цветение и созревание происходило в один и тот же сезон при весеннем посеве. Данный метод стал известен под названием *яровизация*, а впоследствии это название распространилось на другие методы обработки, связанные с зимним охлаждением, не только на стадии семени, но и на более поздних стадиях развития растений.

10.1.1. Типы растений, требующих охлаждения для перехода к цветению

Мы видели, что охлаждение озимой пшеницы стимулирует последующее цветение, если дается на ранних стадиях прорастания или позднее, когда листья уже достигли значительного развития. В более поздних работах было установлено, что многие виды, в том числе озимые однолетние, а также двулетние и многолетние травянистые растения, нуждаются в охлаждении для перехода к цветению. К озимым однолетникам относятся виды, которые обычно прорастают осенью и цветут ранней весной, например *Aira praecox*, *Erophila verna*, *Myosotis discolor* и *Veronica agrestis*.

Известно, что озимые однолетники и двулетники представляют собой монокарпические растения, которые требуют яровизации, — они остаются вегетативными во время первого вегетативного сезона и цветут следующей весной или ранним летом в ответ на период охлаждения, получаемый зимой. Необходимость охлаждения двулетних растений для индукции цветения была экспериментально продемонстрирована на ряде видов, таких, как свекла (*Beta vulgaris*), сельдерей (*Apium graveolens*), капуста и другие культивируемые сорта рода *Brassica*, колокольчик (*Campanula medium*), лунник (*Lunaria biennis*), наперстянка (*Digitalis purpurea*) и другие. Если растения наперстянки, которые в нормальных условиях ведут себя как двулетники, т. е. зацветают на второй год после прорастания, содержать в оранжерее, они могут оставаться вегетативными несколько лет. В районах с мягкой зимой капуста в течение нескольких лет может расти в открытом грунте без «образования стрелки» (т. е. цветения) весной, что обычно происходит в

районах с холодной зимой. Такие виды обязательно требуют яровизации, однако у ряда других видов цветение ускоряется при воздействии на них холодом, но может наступать и без яровизации; к таким видам, проявляющим факультативную потребность в холоде, относятся салат (*Lactuca sativa*), шпинат (*Spinacia oleracea*) и позднецветущие сорта гороха (*Pisum sativum*).

Так же как и двулетние, многие многолетние виды нуждаются в воздействии холодом и не зацветают без ежегодного зимнего охлаждения. Из обычных многолетних растений в холодном воздействии нуждаются первоцвет (*Primula vulgaris*), фиалки (*Viola* spp.), лакфиоль (*Cheiranthus cheirii* и *C. allionii*), левкой (*Mathiola incarna*), некоторые сорта хризантем (*Chrysanthemum morifolium*), виды рода *Aster*, турецкая гвоздика (*Dianthus*), плевел (*Lolium perenne*). Многолетние виды требуют переяровизации каждую зиму.

Вполне вероятно, что и у других весеннецветущих многолетних можно обнаружить потребность в охлаждении. Весеннецветущие луковичные растения, такие, как нарциссы, гиацинты, пролески (*Endymion nonscriptus*), крокусы и т. д. не требуют охлаждения для заложения цветков, поскольку примордий цветка заложился в луковиче предыдущим летом, но их рост в значительной степени зависит от температурных условий. Например, у тюльпана началу цветения благоприятствуют относительно высокие температуры (20 °C), но для удлинения стебля и роста листьев оптимальной температурой вначале является 8—9 °C с последовательным повышением на более поздних стадиях до 13, 17 и 23 °C. Аналогичные реакции на температуру характерны для гиацинтов и нарциссов.

У многих видов заложение цветка происходит не во время самого периода охлаждения и начинается лишь после того, как растение подверглось действию более высоких температур, следующих за охлаждением. Однако некоторые растения, например брюссельская капуста, должны оставаться при низкой температуре до формирования примордия цветка. Таким образом, все виды, требующие охлаждения для перехода к цветению, могут быть яровизированы на стадии «растения», т. е. облиственного растения, но не все виды могут яровизироваться на стадии «семени», как, например, озимые зерновые. Среди других видов, которые могут быть яровизированы на стадии семени, — горчица (*Sinapis alba*) и свекла (*Beta*). Вместе с тем культивируемые сорта рода *Brassica* (капуста кочанная, брюссельская) и сельдерей нельзя яровизировать на стадии семени, и их проростки должны достигнуть определенных минимальных размеров, прежде чем станут чувствительными к охлаждению; таким образом у этих растений наблюдается «ювенильная» стадия. Обычно виды, которые могут быть яровизированы на стадии

«семени» являются факультативными в отношении охлаждения, тогда как яровизирующиеся только на стадии «растения» характеризуются обязательной потребностью в холоде.

Многие растения, нуждающиеся в охлаждении, сходны с длиннодневными растениями в том, что в вегетативной стадии имеют розеточный габитус и проявляют характерное удлинение цветоносного побега во время цветения.

Необходимость охлаждения для заложения цветка нельзя смешивать с необходимостью охлаждения для снятия покоя почек (см. с. 392). Так, многие древесные растения цветут весной, но заложение цветка в почке происходит во время предыдущего лета, и они нуждаются в охлаждении не для заложения цветка, а для снятия покоя почки.

10.1.2. Виды, для которых характерна реакция на охлаждение и фотопериодизм

Взаимодействие между яровизацией и фотопериодической реакцией было изучено на многих видах. Белена (*Hyoscyamus niger*) существует в однолетней и двулетней формах, аналогично яровой и озимой формам ржи. Однолетняя форма не требует яровизации, но является длиннодневным растением, которое цветет летом. Двулетняя форма для перехода к цветению требует яровизации с последующим воздействием длинного дня.

В качестве примера многолетнего растения, одновременно реагирующего на яровизацию и проявляющего фотопериодическую реакцию, можно привести многолетний плевел (*Lolium perenne*). У этого вида заложение цветков происходит в ответ на зимнее охлаждение, но для появления соцветия необходимы длинные дни, и, таким образом, пока длина дня в марте не достигнет 12 ч, удлинения цветоносного побега не происходит. Новые отростки (боковые побеги), появившиеся весной и летом, не яровизированы и остаются вегетативными в течение всего сезона, вплоть до следующей зимы. Поэтому цветение многолетнего плевела характеризуется сезонностью и ограничивается весной и ранним летом.

Среди короткодневных растений потребность в яровизации менее распространена; наиболее изученной в этом отношении является хризантема увенчанная. Определенные сорта хризантем для инициации цветения необходимо яровизировать, причем еще до того, как растения подвергнутся воздействию короткого дня. После того как родительское растение отцветет, осенью в основании стебля возникает большое число корней, растущих сразу же под поверхностью почвы. В условиях открытого грунта эти новые побеги будут яровизироваться за счет естественного зимнего охлаждения и весной образуют

нормальные, растущие кверху облиственные побеги, которые летом, в условиях длинного дня, остаются вегетативными и на которых в ответ на короткие дни осенью закладываются цветки. Однако если растения росли в условиях оранжереи и не получили зимнего охлаждения, то новые побеги будут неярковизированными, и, хотя они активно растут в течение лета, тем не менее не способны образовывать цветки при наступлении коротких осенних дней. Таким образом, хризантема служит еще одним примером того, что ежегодно возникающие новые побеги должны пройти яровизацию, поскольку состояние яровизации не передается от родительских растений, как это наблюдается у ржи (см. с. 361).

У некоторых видов были изучены генетические аспекты реакций яровизации. У ржи, как было установлено, различия между яровой и озимой формами регулируются одним главным геном и требование яровизации у озимых форм будет рецессивным по отношению к нетребованию яровизации у яровой ржи. Противоположная ситуация наблюдается у белены: двулетняя белена, требующая яровизации, несет доминантный ген, а однолетняя, не требующая охлаждения, — рецессивный. У других видов наследование реакций охлаждения более сложное (у плевела (*Lolium perenne*), по-видимому, включает несколько генов).

10.1.3. Физиологические аспекты яровизации

Изучение физиологических реакций, лежащих в основе яровизации, проводилось на относительно небольшом числе видов, и наши знания по данному вопросу базируются главным образом на работах Грегори и Первиса с озимой рожью, Мельхерса и Ланга с белой и Велленсика с некоторыми другими видами.

В работах Грегори и Первиса был установлен ряд важных особенностей процессов, происходящих во время яровизации ржи. Во-первых, эти авторы показали, что изменения происходят в самом зародыше, а не в эндосперме, как предполагалось ранее. Это было сделано путем выделения зародышей из зерна и культивирования их на стерильной питательной среде, содержащей сахар; такие зародыши после воздействия на них холодом в процессе дальнейшего роста проявляли типичную реакцию ускорения цветения, характерную для растений, выращенных из яровизированного зерна. Оказалось возможным яровизировать даже изолированные апексы побегов, взятые от зародышей и культивируемые в стерильных условиях. Такие апексы развивали корни и образовывали проростки, которые в конечном итоге цвели в ответ на предыдущее воздей-

ствие холодом. Кроме того, было установлено, что яровизация может быть эффективна даже во время развития зародыша в колосе материнского растения. Это было осуществлено путем помещения развивающихся колосьев в герметично закрытые колбы со льдом или путем срезания развивающихся колосьев и выдерживания их в холодильнике до созревания. Таким образом, было продемонстрировано, что яровизация зародыша эффективна, даже если после оплодотворения прошло всего 5 дней.

У взрослых растений охлаждению должна обязательно подвергаться апикальная зона. Это было показано на сельдерее, свекле и хризантеме путем перемещения охлаждающей спирали вокруг апикальной зоны побега. Следовательно, если в фотопериодической реакции чувствительными к длине дня органами оказываются листья, то при яровизации сам апекс побега чувствителен к соответствующим температурам. Велленсиком было установлено, что молодые листья *Lunaria* также способны яровизироваться, но старые, прекратившие рост листья не реагируют на яровизацию, если клеточные деления в основании черешка прекратились. Велленсик утверждает, что яровизации поддаются лишь те ткани, в которых имеются делящиеся клетки.

Для большинства видов наиболее эффективными температурами являются температуры чуть выше 0°C , а именно $1-2^{\circ}\text{C}$, но температуры в пределах от -1 до $+9^{\circ}\text{C}$ оказывают почти такой же эффект. Следовательно, замораживание клеток не обязательно для того, чтобы вызывать изменения, имеющие место во время яровизации; этот факт позволяет предположить, что в яровизации в большей степени участвуют физиологические, а не чисто физические процессы. Такое заключение подтверждается неэффективностью обработки зерна ржи холодом в анаэробных условиях, что свидетельствует о существенном значении аэробного дыхания. При культивировании выделенных зародышей на средах, содержащих и не содержащих сахар, было установлено, что снабжение углеводами необходимо во время обработки холодом. Таким образом, хотя при низких температурах метаболизм у большинства растений значительно замедляется, не вызывает сомнения, что яровизация включает активные физиологические процессы, природа которых пока еще совершенно неизвестна.

Было установлено, что степень ускорения цветения у ржи зависит от продолжительности охлаждения. Чем продолжительнее воздействие холодом, тем короче период от посева до зацветания; однако такая зависимость сохраняется до определенного предела, после которого дальнейшее воздействие холодом не оказывает эффекта на ускорение цветения (рис. 10.2, А). Достаточно короткое воздействие холодом (7—11 дней) уже

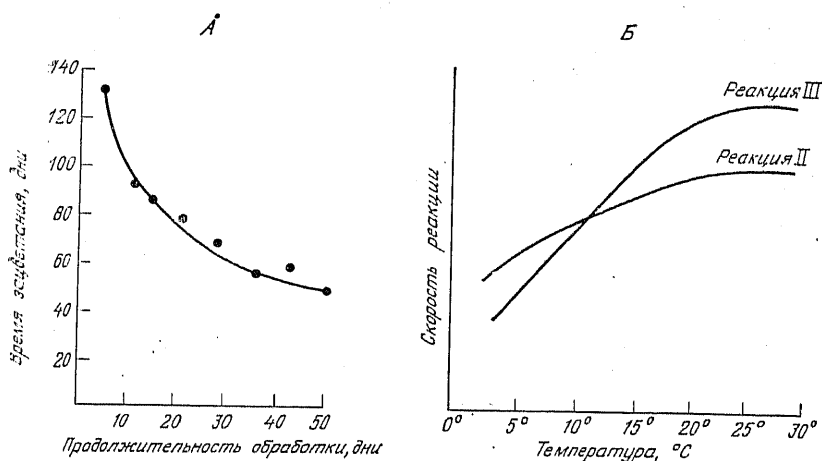


Рис. 10.2. А. Влияние продолжительности охлаждения семян на последующее цветение озимой ржи сорта *Petkus*. Кривая показывает время от посева до зацветания при различных периодах яровизации. (O. N. Purvis, F. G. Gregory, *Ann. Bot.*, 1, N. S. 569, 1937.)

Б. График иллюстрирует две гипотетические реакции с различными температурными коэффициентами (см. текст).

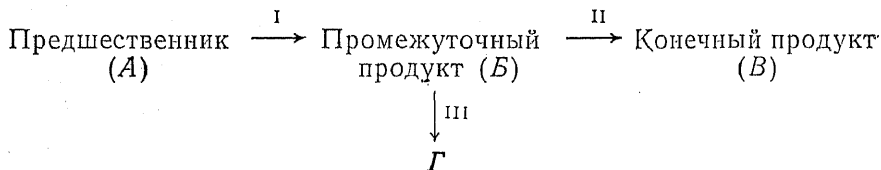
оказывает заметный эффект, который постепенно усиливается с увеличением времени обработки.

Эффект яровизации может быть снят путем воздействия на зерно относительно высокими температурами (25—40 °C) в течение примерно 4 дней. У семян, обработанных таким способом, снижалась реакция цветения, иными словами, происходила их деяровизация. С увеличением периода охлаждения обратимость эффекта затрудняется и при полной яровизации высокие температуры не оказывают влияния. Деяровизированные зерна можно вновь яровизировать последующим воздействием холода.

Яровизированные растения ржи передают состояние яровизации новым, образующимся позднее тканям, так что все новые боковые побеги будут также яровизированы. В самом деле, если удалить апекс основного побега, то боковые побеги тронутся в рост; если у этих побегов также удалить апексы, то в рост тронутся вторичные боковые побеги и т. д. Даже боковые побеги четвертого порядка все еще полностью сохраняют состояние яровизации, хотя их и не было во время холодной обработки. Следовательно, состояние яровизации передается от родительских клеток дочерним в процессе клеточного деления и, оно, по-видимому, не «разбавляется» при такой передаче.

10.1.4. Природа изменений, происходящих во время яровизации

Одна из характерных особенностей яровизации, которую нельзя не заметить даже с первого взгляда, состоит в том, что она включает процессы, которые протекают быстрее при более низких, чем при более высоких температурах. Такая ситуация совершенно нехарактерна для химических процессов; поэтому мы должны допустить, что изменения, происходящие во время яровизации, в сущности представляют собой регулируемые ферментами реакции и проявляют все признаки таких реакций. Как тогда объяснить явный «отрицательный температурный коэффициент» яровизации? Для этой цели была выдвинута очень простая гипотеза, которая постулировала существование двух отдельных процессов, конкурирующих за общий субстрат. Каждый из процессов имеет положительные (хотя и различные) температурные коэффициенты:



В данной схеме реакции II и III конкурируют за общий промежуточный продукт B. Допустим, что реакция III имеет более высокий температурный коэффициент, чем реакции I и II (рис. 10.2, Б). Это означает, что высокая температура благоприятствует реакции III и больше B будет участвовать в этой реакции, поэтому будет образовываться мало B. Однако, когда температура заметно снизится, больше снизится и скорость реакции III, чем реакции II (поскольку, по определению, реакция III более чувствительна к изменению температуры). Следовательно, понижение температуры благоприятствует реакции II, в результате чего будет накапливаться конечный продукт B, т. е. B будет накапливаться при низких, а не при высоких температурах. Таким образом, процесс суммарного образования B имеет, по-видимому, «отрицательный температурный коэффициент», хотя каждая из трех включенных реакций имеет положительный температурный коэффициент. Прямых данных, подтверждающих эту гипотезу, нет, но ценность ее заключается в том, что она показывает, как общий процесс может протекать быстрее при более низкой температуре без нарушения естественных законов химических реакций.

Мы уже видели, что яровизация связана с относительно стабильными изменениями, так что, коль скоро меристематическая ткань достигла состояния полной яровизации, она передает это состояние образующимся новым клеткам без «разбавления».

Это заключение в свою очередь наводит на мысль, что состояние яровизации передается через некоторые самореплицирующиеся цитоплазматические органеллы, но в равной степени также возможно, что в процессе яровизации происходит активация определенных генов, и происшедшее изменение передается дочерним ядрам во время деления.

10.1.5. Стимул цветения в яровизации

Хотя яровизации было посвящено очень много исследований, наши представления о природе связанных с ней физиологических и биохимических процессов все еще весьма фрагментарны. До сих пор не ясно, связана ли яровизация с образованием особого (способного к перемещению) гормона цветения, хотя имеющиеся данные позволяют предположить это по крайней мере для некоторых видов. Мы видели, что весьма убедительные данные, касающиеся синтеза гормона цветения в фотопериодических реакциях, были получены в экспериментах с прививками; в какой-то степени сходные результаты были получены на определенных видах, для цветения которых необходима яровизация.

Показательным примером индукции цветения путем прививки у яровизирующихся растений является эксперимент с беленой. Если листья яровизированной двулетней формы белены привить на неяровизированный подвой той же формы, последний индуцируется к цветению без охлаждения. Аналогичный результат наблюдается, если на неяровизированную двулетнюю форму привить лист от одного из следующих растений: 1) однолетней формы белены (ДДР, не требующее яровизации); 2) *Petunia hybrida* (однолетнего ДДР); 3) табака (нейтральной формы); 4) табака (сорт *Maryland Mammoth*, КДР), независимо при КД или ДД. Следовательно, передача стимула цветения может происходить между нуждающимися и не нуждающимися в охлаждении растениями, даже если эти растения относятся к другому роду. Аналогичные данные были получены на двулетних видах свеклы (*Beta vulgaris*), капусты (*Brassica oleracea*), моркови (*Daucus carota*) и *Lunaria biennis*. На основе этих данных Мельхерс и Ланг предположили, что в результате охлаждения у двулетних растений образуется стимул цветения, который они называли *верналином*.

Вместе с тем некоторые виды, в том числе хризантема, не способны передавать стимул цветения от яровизированного к неяровизированному растению путем прививки. Более того, если верхушка растения получила местную обработку холодом и, следовательно, цвела, то остальные почки, непосредственно не получавшие охлаждения, оставались вегетативными. Точно так же, когда верхушку неяровизированного растения редиса

прививали на яровизированное растение, цветения не наступало. Эти последние данные согласуются с выводом, что *состояние яровизации* (в противоположность стимулу цветения) передается только в результате клеточного деления. Поэтому мы должны провести различие между яровизированным («термоиндуцированным») состоянием и образованием гормона цветения так же, как мы сделали это для фотопериодизма, разделив индуцированное состояние листа и образующийся в нем способный к перемещению стимул.

Остается не ясным, существует ли особый стимул цветения верналин, образующийся в растениях в результате воздействия холодом. В большинстве успешных экспериментов с прививками, на которые мы ссылались выше, донорами являлись виды, которые нуждаются в двух условиях — охлаждении и ДД, или только ДД; эксперименты проводились обычно в условиях ДД. Кроме того, обычно было необходимо, чтобы донорные побеги имели листья. Таким образом, представляется вероятным, что верналин идентичен гормону цветения, образующемуся в листьях ДДР. Против такого заключения высказались Мельхерс и Ланг; эти авторы основывались на том, что листья табака сорта Maryland Mammoth индуцируют цветение подвоев двулетней белены как в условиях КД, так и в условиях ДД, хотя сам Maryland Mammoth в последнем случае не цветет (рис. 10.3). С другой стороны, двулетняя белена вызывала образование цветков у табака Maryland Mammoth только в том случае, если донор был яровизирован. Эти результаты наводят на мысль, что существует особый, способный к передвижению фактор, который возникает у нуждающихся в охлаждении растений только после охлаждения, тогда как у не требующих охлаждения его образование не зависит от фотопериодической индукции, и, следовательно, он не может быть идентичен фло-

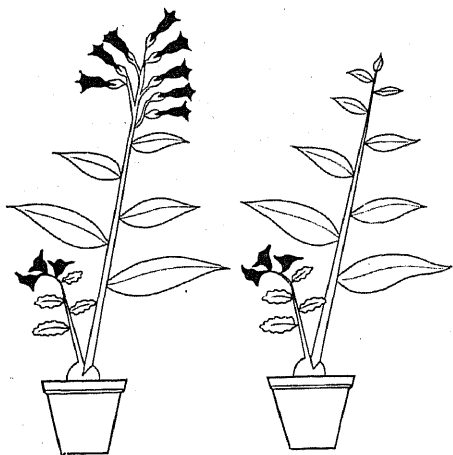


Рис. 10.3. Индукция цветения у неяровизированной двулетней белены донорными растениями табака сорта Maryland Mammoth в условиях короткого дня (*справа*). Обратите внимание на возникновение реакции цветения, вызванной неиндуцированным донором. (Lang, 1965; см. дополнительную литературу.)

ригену. Однако предположили, что между верналином и флоригеном существует взаимная зависимость, т. е. для образования флоригена должен присутствовать верналин. Таким образом, последовательность¹ событий в требующих охлаждения растениях можно обобщить следующим образом:

Низкая температура → Состояние яровизации →
→ Верналин → Флориген

В более общем виде последовательность¹ может быть представлена так:

→ Верналин → Флориген → Образование цветка

Растения, требующие охлаждения: Фотопериодические растения:

только после охлаждения

только на индуктивном фото-
периоде

Остальные: без охлаждения

Нейтральные растения:
независимо от длины дня

10.2. ПРИРОДА СТИМУЛА ЦВЕТЕНИЯ

10.2.1. Попытки выделить стимул цветения

Как мы видели, данные, полученные в различных экспериментах с прививками, описанных в гл. 9, убеждают в том, что стимул цветения возникает в листьях и у КДР и ДДР при благоприятных условиях длины дня и передается в меристемы, где вызывает переход вегетативного апекса в генеративное состояние. Более того, в КДР и ДДР образуется, по-видимому, один и тот же тип стимула цветения, что можно предположить, исходя из следующего эксперимента. *Kalanchoë blossfeldiana* представляет собой КДР, тогда как *Sedum ellacombianum* и *S. spectabile* из того же семейства (Crassulaceae) — ДДР. Если вегетативные побеги *Sedum* взять от растения, выращиваемого на КД, и привить на каланхоэ, находящееся на КД, то зацветет не только подвой, но также и *Sedum*, который сам по себе в условиях КД не цветет (рис. 10.4). Следовательно, стимул, образованный в КДР каланхоэ, будет вызывать цветение у ДДР *Sedum*. Если же вегетативные побеги каланхоэ, взятые от растений, растущих на ДД, привить на *Sedum*, растущий в таких же условиях, то опять и подвой, и привой будут цвести. Следовательно, ДДР *Sedum* образует стимул цветения в условиях ДД, который способен вызывать цветение у КДР каланхоэ. Эти эксперименты наводят на мысль, что стимул цветения КДР и ДДР идентичен.

¹ По Лангу, 1965 (см. дополнительную литературу).

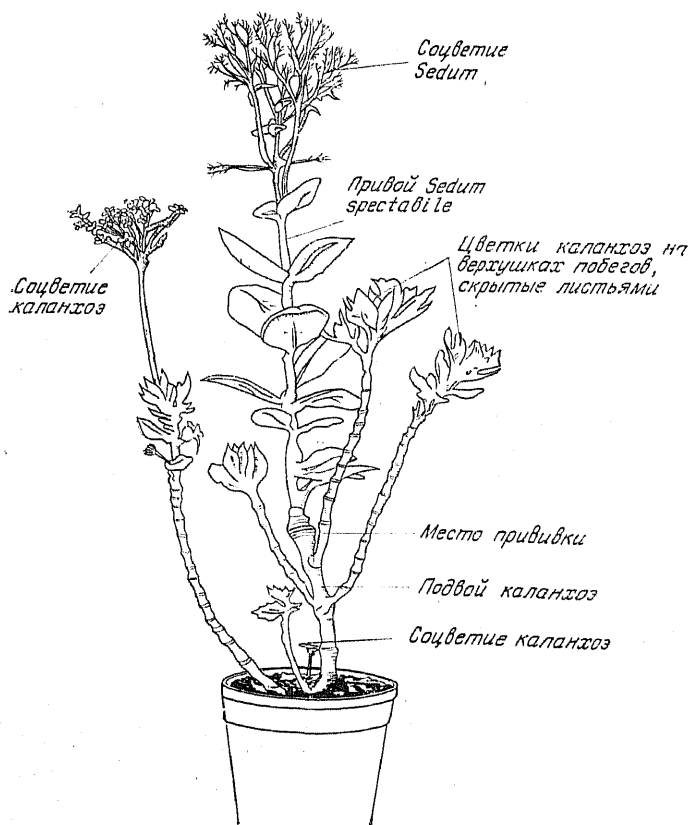


Рис. 10.4. Передача стимула цветения от короткодневного растения *Kalanchoe blossfeldiana* длиннодневному растению *Sedum spectabile* в результате прививки. Привой от вегетативного растения *Sedum*, растущего в условиях короткого дня, был привит на цветущее растение каланхоэ, растущее при такой же длине дня. Привой *Sedum*, как и подвой каланхоэ, цвел в этих условиях. (Рисунок I. D. J. Phillips, растение предоставлено J. Hillman.)

Ряд экспериментальных результатов описанного типа согласуется с гипотезой, что в условиях соответствующей длины дня в листьях возникает особый гормон цветения, который способен к передаче путем прививки. Прививочные эксперименты с видами, нуждающимися в охлаждении, также доказали способность стимула цветения к перемещению.

Несмотря на то что данные о существовании гормонов цветения весьма убедительны, повторяющиеся попытки экстрагировать особый гормон цветения из КДР в течение 40 лет почти всегда приводили к неудачам. Однако сравнительно недавно

М. Х. Чайлахян и его сотрудники в Москве сообщили, что они получили экстракты индуцированных листьев короткодневного мэрилендского табака, обработка которыми вегетативных проростков *Chenopodium album* (КДР), содержащихся в условиях длинного дня, индуцирует у них цветение. Таким образом, намечился некоторый прогресс в вопросе выделения и идентификации стимула цветения у КДР.

Однако нам еще предстоит доказать существование особого «гормона цветения», поскольку, по имеющимся данным, цветение регулируется не каким-то особым веществом, а является результатом взаимодействия двух или более ростовых веществ, каждое из которых может иметь широкий спектр действия. Мы уже видели, какие резкие морфогенетические изменения могут возникать в культуре ткани в результате изменения относительных уровней содержания ауксина и цитокинина в питательной среде (с. 240). Следовательно, переход от вегетативного к генеративному состоянию может регулироваться изменением уровней определенных веществ, например таких, как ауксины, гиббереллины и цитокинины, или равновесием в содержании этих веществ. Указанную возможность мы сейчас и рассмотрим.

10.2.2. Влияние гиббереллинов и других ростовых гормонов на цветение

Хотя почти все попытки регулировать цветение аппликацией ауксина оказывались неудачными (за исключением примера с ананасом; с. 221), было обнаружено, что ряд длиннодневных растений можно индуцировать к цветению в условиях короткого дня в результате обработки GA_3 (табл. 10.1). ДДР, реагирующие на GA_3 , — типичные виды, образующие на КД хорошо выраженную розетку и характеризующиеся заметным удлинением цветоносного побега («стрелкованием») на ДД. Обработка таких видов, растущих на КД, GA_3 приводит к заметному удлинению цветоносного побега, сопровождающемуся заложением цветка.

Гиббереллин эффективен также в стимуляции цветения «длиннокороткодневных растений» *Briophyllum crenatum* и *B. daigremontianum*, которые в обычных условиях для заложения цветка вначале должны быть подвергнуты действию ДД, а затем КД, но которые будут цвести в условиях КД, если их обработать GA_3 . Следовательно, GA_3 заменяет воздействие ДД у этих видов.

Ряд видов, обычно нуждающихся в яровизации для перехода к цветению, может быть индуцирован к цветению обработкой экзогенным GA_3 (табл. 10.1, рис. 10.5). Следовательно, у этих видов GA_3 , по-видимому, заменяет обработку холодом.

Таблица 10.1

**Виды, зацветающие в неиндуктивных условиях
в ответ на обработку гибберелловой кислотой (ГАЗ)**

А. Длиннодневные растения

Cichorium endivia (цикорий)
Hyoscyamus niger (белена однолетняя)
Lactuca sativa (салат-латук)
Papaver somniferum (мак снотворный)
Petunia hybrida (петуния)
Raphanus sativus (редис)
Rudbeckia bicolor (рудбекия)
Silene armeria (смолевка)
Spinacia oleracea (шпинат)

Б. Растения, требующие охлаждения

Apium graveolens (укроп)
Avena sativa (овес)
Beta vulgaris (свекла)
Bellis perennis (маргаритка многолетняя)
Brassica oleracea (капуста)
Daucus carota (морковь)
Digitalis purpurea (наперстянка пурпурная)
Hyoscyamus niger (белена двулетняя)
Matthiola incana (левкой)
Myosotis alpestris (незабудка альпийская)
Solidago virgaurea (золотая розга)

Однако ГАЗ, очевидно, не будет стимулировать цветение у не-яровизированной ржи и некоторых других видов, хотя вызывает у них удлинение стебля. Обработка семян ГАЗ с целью стимуляции цветения обычно не эффективна даже у видов, которые реагируют на яровизацию семян.

Если принять во внимание все эти наблюдения, то возникает вопрос, не являются ли эндогенные гиббереллины «гормоном цветения» у ДДР и видов, проявляющих реакцию яровизации. Так, можно предположить, что у ДДР, растущих на коротком дне, уровень эндогенных гиббереллинов слишком низок для индукции цветения и что действие длинного дня вызывает повышение уровня эндогенных гиббереллинов до пороговой величины, необходимой для цветения. Действительно, у некоторых видов, в том числе у шпината и белены, наблюдалось значительное повышение уровня эндогенного гиббереллина при перемещении растений с КД на ДД. Кроме того, экстракты гиббереллинов длиннодневной *Rudbeckia*, растущей на ДД, индуцируют цветение у того же вида, растущего на КД. Сходным образом во время яровизации двулетнего растения алтея (*Althaea rosea*) происходит увеличение уровня гиббереллиноподобного вещества, которое стимулирует цветение рудбекии, хотя и не стимулирует цветения у неяровизированного алтея.

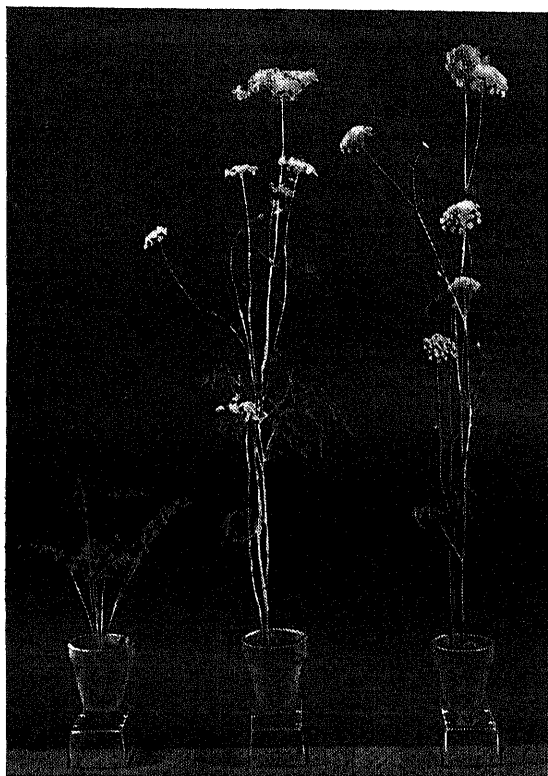


Рис. 10.5. Влияние яровизации и гибберелловой кислоты на цветение моркови.
(A. Lang, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 43, 709, 1957.)

Слева. Необработанное контрольное растение. *Справа.* Растение, на которое воздействовали холодом в течение 8 нед. *В центре.* Растение, не подвергавшееся воздействию охлаждения, но подвергавшееся ежедневной обработке GA_3 по 10 г в день.

Последний пример наводит на мысль, что изменение уровня эндогенных гиббереллинов может играть важную роль в цветении, однако другие данные не подтверждают гипотезы о том, что цветение ДДР и растений, требующих яровизации, регулируется в основном гиббереллинами. Ниже перечислены эти данные.

1. Как мы видели, имеются данные о том, что стимул цветения ДДР и КДР идентичен; тем не менее гиббереллины совершенно не эффективны в индукции цветения у большинства КДР.

2. Не все ДДР и виды, требующие охлаждения, можно индуцировать к цветению обработкой GA_3 . (У некоторых из указанных видов можно индуцировать цветение применением дру-

ного гиббереллина. Например, GA_4 и GA_7 ускоряют цветение у *Myosotis alpestris*, которая не реагирует на GA_3 . Следовательно, некоторые виды обладают, по-видимому, более определенными требованиями в отношении природы гиббереллина, который будет стимулировать цветение, и эти требования неодинаковы для разных видов.)

3. Почти все розеточные растения реагируют на GA_3 удлинением цветоносного побега, в том числе виды, которые не цветут после такой обработки. Кроме того, у белены при индукции цветения в условиях ДД образование примордиев цветков предшествует удлинению цветоносного побега, тогда как в ответ на обработку GA_3 у растений, содержащихся на КД, вначале происходит удлинение цветоносного побега, а затем появляются примордии цветков. Вместе с тем у *Silene armeria* рост стебля можно полностью подавить обработкой АМО-1618, тогда как образование цветка продолжается нормально; следовательно, рост стебля и формирование цветка — два независимых процесса, которые регулируются различными гормонами. Помимо этого, генетический анализ *Silene* ясно показывает, что рост стебля и образование цветка детерминируют различные гены. Эти факты заставляют предположить, что удлинение цветоносного побега и начало цветения — процессы различные и что в первую очередь GA_3 действует на удлинение побега, а заложение цветка является вторичным эффектом удлинения стебля у некоторых видов.

4. Экзогенный GA_3 не стимулирует цветения у «нормальных» генотипов красного клевера (*Trifolium pratense*), но у некоторых нецветущих генотипов этого вида для цветения необходимы как ДД, так и GA_3 . Таким образом, у этих нецветущих генотипов GA_3 не заменяет ДД. Предполагается, что какой-то другой ускоряющий цветение фактор также функционирует у этого вида.

Итак, несмотря на наличие убедительных данных о том, что изменение уровней эндогенных гиббереллинов может играть важную роль в реакциях цветения ДДР, это, по-видимому, еще «не все» для ДДР, и, конечно же, реакции КДР нельзя рассматривать как исключение с этой точки зрения.

Помимо стимуляции цветения гиббереллинами, было обнаружено, что ряд других регулирующих рост веществ, как природных, так и искусственных, ускоряет цветение некоторых видов в соответствующих условиях. Так, у ананаса цветение можно индуцировать не только синтетическим ауксином, но также и этиленом. При определенных условиях кинетин и аденин вызывают цветение у периллы, а зеатин — у водного растения *Wolffia microscopica*. Аналогичным образом естественный ингибитор роста абсцизовая кислота (с. 111) способствует цветению отдельных видов, тогда как синтетические ретарданты ро-

ста ССС и В-9 ускоряют цветение у большого числа видов, включая яблоневые и грушевые деревья. Было отмечено, что ряд других веществ, таких, как трийодбензойная кислота, гидразид малеиновой кислоты, витамин Е и даже сахара, ускоряют цветение у небольшого числа видов.

Тем не менее у большинства КДР и некоторых ДДР цветение невозможно индуцировать ни при какой комбинации известных гормонов. Следовательно, в настоящее время мы не можем рассматривать реакцию цветения большинства видов как результат взаимодействия между известными ростовыми гормонами.

Вывод о том, что реакции цветения нельзя объяснить взаимодействиями известных гормонов роста, а также безуспешные попытки экстрагировать особый гормон цветения, свидетельствует об упрощенном подходе к проблеме, основанном на представлении о регулировании цветения единственным специфическим гормоном. Выделение и идентификация стимула цветения остается одной из наиболее актуальных проблем физиологии развития растений.

10.3. СЕКСУАЛИЗАЦИЯ И ГОРМОНЫ РОСТА

Существует ряд данных, свидетельствующих о том, что ростовые гормоны могут детерминировать пол у некоторых растений. Эти данные были получены при изучении двудомных видов (мужские и женские цветки на разных растениях), таких, как конопля (*Cannabis sativa*), и тех однодомных, у которых мужские и женские репродуктивные органы (тычинки и пестики) образуются на различных цветках одного растения, например у некоторых сортов огурца (*Cucumis sativus*). Обработка путем опрыскивания генетически мужских растений конопли ауксином вызывает образование женских цветков. Для однодомных сортов огурца характерно, что мужские цветки развиваются на ранних стадиях роста, а женские формируются только после этого. Однако обработка ауксином листьев молодых растений огурца приводила к ускорению перехода от образования мужских цветков к образованию женских. Было высказано предположение, что женские цветки или части цветков проявляют тенденцию дифференцироваться в условиях более высокой концентрации ауксина, чем мужские цветки или их части. Это предположение подкрепляется тем фактом, что генетически детерминированные к образованию только мужских цветков формы огурца содержат меньше эндогенного ауксина, чем обычные обоеполые формы. «Феминизацию» у огурца также усиливает обработка этиленом или этрелом (промышленный вариант 2-хлорэтанфосфоновой кислоты).

Обработка гиббереллином однодомных растений огурца в отличие от обработки ауксином увеличивает количество образующихся мужских цветков. Обработка «гинецеевых» огурцов (т. е. тех экземпляров двудомных сортов, которые обычно образуют только женские цветки) гиббереллином приводит к формированию также и мужских цветков. Более того, у «гинецеевых» растений содержание эндогенного гиббереллина ниже, чем у нормальных гермафродитных форм. Следовательно, возможно, что сексуализация у растений определяется балансом между эндогенными ауксинами и гиббереллинами. Действие ауксина на сексуализацию цветка может включать участие этилена.

10.4. ИЗМЕНЕНИЯ В АПЕКСЕ ПОБЕГА ВО ВРЕМЯ ЗАЛОЖЕНИЯ ЦВЕТКА

Мы видели, что переход от вегетативного к репродуктивному состоянию связан с резкими изменениями в структуре апикальных меристем побега (с. 64). Ранние стадии этого перехода были изучены у ряда КДР и ДДР. В самом деле, такие КДР, как *Xanthium* или *Chenopodium*, и ДДР, как *Lolium temulentum*, у которых цветение можно индуцировать всего лишь одним индуктивным циклом, являются весьма удачным материалом для изучения перехода к цветению, поскольку временные параметры этого перехода можно контролировать в пределах до нескольких часов. Эксперименты на *Xanthium* показали, что первые изменения, ведущие к заложению цветка, можно обнаружить приблизительно через 4 дня после воздействия одним КД-циклом, но если растение подвергнуть действию двух КД-циклов, то изменения обнаруживаются уже в конце обработки.

Мы видели, что у *Xanthium* и *Pharbitis* первые изменения выражаются в делении клеток между центральной зоной и колончатой меристемой. Однако у *Sinapis* и *Anagallis* активность в первую очередь обнаруживается в периферической, а затем уже в центральной зоне. Изменения, связанные с возникновением цветка, включают увеличение числа митозов и ядер, синтезирующих ДНК; кроме того, увеличивается также диаметр ядрышек, особенно в центральной зоне; часто происходит также выпячивание меристемы и увеличение ее размеров, сопровождающееся вакуолизацией и удлинением центральных клеток колончатой меристемы. Вскоре наступает стадия, когда «мантия», состоящая из мелких, густо окрашенных и активно делящихся клеток, покрывает центральную сердцевину, состоящую из более вакуолизированных клеток (рис. 2.19).

Ясно, что при переходе меристемы растения в фазу цветения происходит резкое изменение экспрессии генов и многие гены «цветения», которые в вегетативной фазе оставались не-

активными, теперь приводятся в действие. Мы слишком мало знаем о том, каким образом осуществляется регуляция экспрессии генов в растениях, но в гл. 13 вопрос этот обсуждается. Поскольку регуляция развития должна включать синтез специфических ферментов через процесс, включающий кодирование ДНК различных типов РНК, это доказывает, что метаболизм нуклеиновой кислоты, по-видимому, очень близко связан с явлениями, происходящими в апексе побега во время заложения (эвокации) цветка. Стимул цветения, образующийся в листьях фотопериодических растений, должен, следовательно, воздействовать на апекс побега посредством ускорения экспрессии специфических генов и, таким образом, включать метаболизм нуклеиновой кислоты.

Изменения, происходящие в нуклеиновых кислотах апекса побега во время возникновения цветка, изучались двумя основными способами: 1) путем включения радиоактивных предшественников в РНК и 2) путем использования ингибиторов синтеза РНК.

У длиннодневного растения *Lolium temulentum* происходит заметное включение радиоактивного предшественника в РНК (свидетельство активного синтеза РНК) апекса побега утром следующего после одного ДД-цикла дня, что указывает на точное время поступления стимула цветения в апекс побега. Изменения в синтезе РНК и белков наиболее отчетливо проявляются в клетках фланговой меристемы, которые дают начало колоскам (рис. 10.6). Сходным образом у ДДР *Sinapis alba* (горчица), зацветающем также в ответ на один ДД-цикл, происходит заметное увеличение синтеза РНК в центральной и периферической зонах апикальной меристемы приблизительно через 17 ч после начала ДД-цикла. Позднее происходит активный синтез ДНК, а затем следует митоз.

Исследования с применением ингибиторов позволили выявить весьма важную роль, которую играет ранний синтез в инициации цветения у некоторых видов; однако никаких данных, свидетельствующих о синтезе молекул РНК или белка, имеющих специфическое отношение к инициации цветения, в этих работах получено не было. Правда, использование иммунодиффузных методик позволило показать, что у горчицы происходит качественное изменение набора белков в меристематической ткани: появляются два новых белка и один исчезает.

Бернер и его коллеги попытались выяснить природу стимула цветения путем детального изучения таких ранних изменений, происходящих во время эвокации. Эти авторы обнаружили, что обработка вегетативных растений горчицы экзогенным цитокинином приводит к увеличению числа митозов в центральной зоне меристемы точно так же, как это наблюдается при реак-

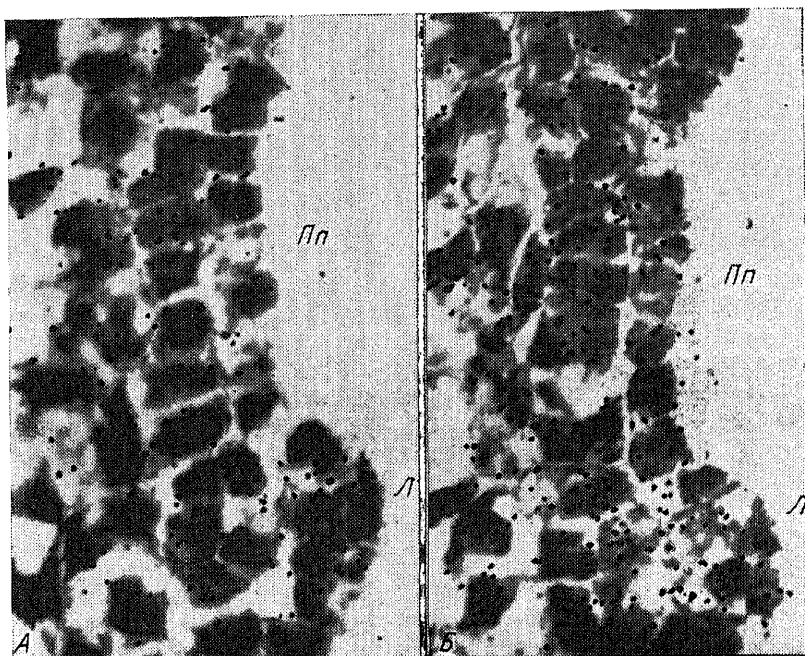


Рис. 10.6. Радиоавтографы вегетативного и индуцированного апексов побега *Lolium temulentum*, меченных ^3H -оротовой кислотой. (R. В. Кнох, L. Т. Evans, Austr. J. Biol. Sci., 21, 1083, 1968.)

А. Место пазушной почки (Пп) и листового примордия (Л) в вегетативном (короткодневном) апексе. Б. В зоне пазушной почки растения, подвергнутого действию длинного дня, происходит активное включение оротовой кислоты (что можно видеть по скоплению зерен серебра), указывающее на активный метаболизм нукленовых кислот.

ции на индуктивный фотопериод, однако дальнейшего развития во флоральный апекс не происходит. Более того, в растениях горчицы, индуцированных действием длинных фотопериодов, обнаружена тенденция раннего увеличения содержания растворимого сахара и активных цитокининов. Было сделано заключение, что как сахара, так и цитокинины могут являться компонентами флорального стимула и что они действуют на меристему независимо и последовательно.

10.5. ПИТАНИЕ И ЦВЕТЕНИЕ

Фермеры и садоводы уже давно знают, что удобрения оказывают заметный эффект на соотношение вегетативного и генеративного роста. В самом деле, с практической точки зрения между вегетативным ростом и репродукцией существует антаго-

низм, и подкормка навозом, которая благоприятствует сильному вегетативному росту, может быть неблагоприятна для цветения и плодоношения. Экспериментальные исследования в некоторой степени подтверждают эту точку зрения. Так, было обнаружено, что недостаток азота способствует раннему зацветанию некоторых длиннодневных растений. Избыток азота и углеводов задерживает образование цветков у гороха (*Pisum sativum*). Однако число случаев, в которых наблюдается отчетливая зависимость между наступлением цветения и минеральным питанием, невелико. Минеральное питание, по-видимому, оказывает сильный эффект на заложение цветков у плодовых деревьев. Высокие уровни азота способствуют вегетативному росту и снижают интенсивность цветения.

10.6. ЦВЕТЕНИЕ «НЕЙТРАЛЬНЫХ» ВИДОВ

У большого числа видов цветение наступает как реакция на длину дня или охлаждение, поэтому открытие фотопериодизма и яровизации стало настоящим прогрессом в нашем понимании физиологии цветения. Однако следует помнить, что у многих видов, быть может даже у стольких же, цветение почти не зависит от длины дня или зимнего охлаждения (табл. 10.2). У этой группы растений, которая уже отмечалась ранее (с. 320), цветение почти не чувствительно к воздействию внешних условий, и, хотя продолжительность вегетативной фазы у них может колебаться в зависимости от факторов окружающей среды, влияние последних не является определяющим. Однако такие виды, которые мы будем называть «нейтральными», резко не отличаются от растений, характеризующихся «количественной» реакцией на длину дня и названных «факультативными» ДДР или КДР (с. 323).

Таблица 10.2

Некоторые примеры видов, характеризующихся
«нейтральными» реакциями цветения

Cucumis sativus (огурец)
Fagopyrum tataricum (гречиха)
Fuchsia hybrida (фуксия)
Helianthus annuus (подсолнечник, некоторые разновидности)
Lathyrus odoratus (чина)
Lycopersicon esculentum (томат)
Nicotiana tabacum (табак, определенные сорта)
Phaseolus vulgaris (фасоль)
Poa annua (мятлик)
Rosa spp.
Senecio vulgaris (крестовник)
Solanum tuberosum (картофель)
Vicia faba (боб конский)

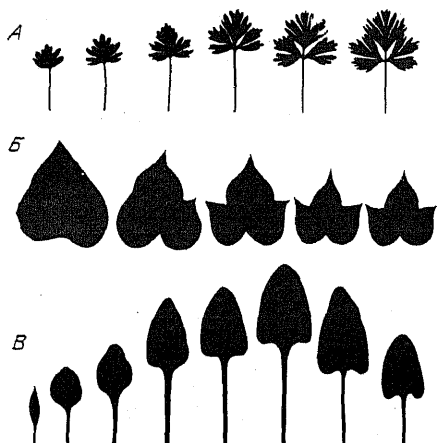


Рис. 10.7. Гетеробластическое развитие на примере последовательно формирующихся листьев у *Delphinium ajacis* (А), *Ipotoea hederacea* (Б) и *Beta vulgaris* (В). (Е. Ashby, New Phytologist, 47, 153 1938.)

У нейтральных видов цветение, по-видимому, определяется в первую очередь каким-то *внутренним* механизмом, поскольку даже при выращивании в постоянных условиях, подсолнечник, например, будет вегетировать в течение определенного периода, а затем только перейдет к репродукции; следовательно, этот переход обусловлен не изменением внешних условий, а регулируется каким-то «внутренним» механизмом. Кроме того, представляется вероятным, что переход от вегетативного состояния к цветению у таких видов есть лишь одно из проявлений более общего феномена, поскольку прогрессивные из-

менения, наблюдающиеся в развитии, характеризуются общими чертами, как видно на примере развития морфологических различий у последовательно образующихся органов, таких, как листья. К числу таких общих черт относится изменение размера и формы у последовательно появляющихся листьев; первые листья обычно бывают меньше, чем последующие, а у видов с рассеченными или сложными листьями первые листья обычно более простые по форме (рис. 10.7), и в серии последовательно формирующихся листьев наблюдается увеличение сегментаций. Развитие растений, характеризующихся такими изменениями, называют *гетеробластическим*. Указанные изменения могут подвергаться влиянию внешних факторов, таких, как интенсивность света и минеральное питание, но они *не зависят* от изменений окружающей среды и будут происходить даже при постоянных условиях.

Изменения формы листа, по-видимому, отражают постепенные изменения размера и формы апекса побега. Например, у подсолнечника диаметр субапикальной зоны увеличивается по мере роста растения, и в конечном итоге такие изменения приводят к образованию соцветия. Вполне возможно, что изменения формы листа возникают в результате этих изменений в апексе побега. Листовые примордии, возникающие на большем апексе, имеют возможность продолжать развитие более дли-

тельный период и, следовательно, образуют более зрелую форму листа.

Гетеробластическое развитие является своеобразным индикатором зрелости растения и достижения им репродуктивного состояния. Например, для раннецветущих сортов хлопчатника (*Gossypium*) характерен крутой градиент изменений формы листа, тогда как у позднецветущих скорость изменения формы листа менее резкая.

Данные, касающиеся прогрессивных изменений, подготавливающих цветение, были получены в экспериментах с выращиванием отрезков стебля табака в стерильной культуре. Такие отрезки образовывали каллус и регенерировали почки. Отрезки междоузлий молодых растений (или нижних частей более старых растений) образовывали вегетативные почки, тогда как из сегментов, полученных от верхних частей цветущих растений, возникали генеративные почки с несколькими листочками или прицветниками. Сегменты, взятые из средней части стебля, вначале образовывали листья и прицветники, а затем цветки. Таким образом, по-видимому, существует градиент предрасположенности к образованию цветков от нижней к верхней части растения.

Эти последние наблюдения наводят на мысль, что свойственная ткани способность образовывать цветки увеличивается в процессе онтогенеза. На основе других наблюдений можно предположить, что «готовность» растения к цветению не включает изменения внутренне присущих клеткам свойств, а в большей степени отражает изменения условий, действию которых подвергаются новые ткани по мере увеличения размеров растения. Так, на растениях подсолнечника были проведены эксперименты, в которых верхушки семянцев прививались на подвой различного возраста, а верхушки более старых растений прививались на сеянцы. В первом случае было обнаружено, что прежде чем зацвести, сеянцы образовывали меньшее число узлов, чем они должны были бы сформировать на родительском растении. Вместе с тем привои или верхушки более старых растений, привитые на сеянцы, образовывали большее число узлов, чем они должны были бы сформировать на родительском растении. Эти результаты свидетельствуют, по-видимому, о том, что условия, которым подвергаются привитые апексы, определяются влиянием других частей растения и что эти условия изменяются с возрастом и/или размером.

О вероятности поступления такого «фактора размера» от корней можно судить по результатам экспериментов с нейтральным по отношению к длине дня сортом табака Wisconsin 38. Этот сорт обычно цветет после образования 30—40 узлов, но если индуцировать образование на стебле адвентивных корней, то число узлов, образующихся до заложения цветков,

значительно увеличивается. В других экспериментах растения выращивали до образования 6—10 листьев, которые имели длину 10 см или больше. Затем растения декапитировали и верхушки помещали на среду для укоренения. Когда укоренившиеся растения опять образовывали 6—10 листьев, процесс повторяли. Было обнаружено, что такая процедура неограниченно задерживала цветение. Следовательно, у этого растения цветение, по-видимому, зависит от числа узлов, которое должно образоваться между корнями и апексами побегов.

Вспомним, что среди растений, которые чувствительны к длине дня или охлаждению, имеется несколько видов, которые не цветут, пока не достигнут определенного минимального размера («готовность к цветению»), и до того, как они достигнут этой стадии, можно говорить, что сеянцы находятся в «ювенильной фазе». Вероятно, это явление связано с необходимостью достижения нейтральными видами определенного минимального размера, прежде чем они зацветут. Действительно, фотопериодические и яровизирующие виды будут вести себя подобно нейтральным, если с момента проращивания их содержать при постоянных, благоприятных цветению условиях; при этом они сначала пройдут определенный период вегетативного роста, а затем перейдут к образованию цветков. Таким образом, физиологические аспекты цветения «чувствительной» и «нейтральной» групп растений, по-видимому, не имеют принципиальных различий, и различия между ними, скорее всего, заключаются в степени чувствительности к внешним условиям.

Если это предположение верно, то можно допустить, что гормон цветения функционирует у чувствительных и нейтральных видов, но пока еще мало данных, свидетельствующих об обнаружении гормонов цветения у нейтральных видов.

10.7. РАЗНООБРАЗИЕ ФАКТОРОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ЦВЕТЕНИЕ

Как мы видели, цветение у различных видов подвержено влиянию и регулированию множеством факторов. Некоторые из этих факторов являются внешними, например длина дня, температура и питание, другие возникают непосредственно в самом растении, как у нейтральных к длине дня видов. Имеющиеся многочисленные данные о действиях этих различных факторов ставят в тупик, и трудно понять, каким образом подогнать друг к другу части такой «картинки-загадки», чтобы составить общую единую картину. Можно спросить, не означает ли факт регулирования цветения довольно разнообразными факторами окружающей среды наличия отдельного регулирующего механизма для каждого фактора? Пытаясь ответить на этот вопрос, полезно подойти к проблеме с разных точек зре-

ния, но при этом нельзя не спросить, что заставляет растение цвести при данных условиях, а точнее, почему при различных условиях оно не цветет? По-видимому, у разных видов цветению препятствуют разные факторы, хотя процесс перехода к цветению у этих видов может быть одинаковым.

Например, у яблони заложение цветков чувствительно к минеральному питанию, но не чувствительно к фотопериоду. Нам не нужно постулировать, что синтез гормона цветения зависит от низкого уровня азота, — вполне возможно, что «гормон цветения» уже содержится в яблоневых побегах, но при избыточном азотном питании увеличивается количество эндогенных гиббереллинов, которые, как известно, тормозят цветение этого растения. Вместе с тем у *Xanthium* синтез гормона цветения, по-видимому, блокируется условиями длинного дня. У растений, нуждающихся в яровизации, при отсутствии охлаждения могут блокироваться совсем другие этапы процесса цветения. Таким образом, у растений с различными типами реакций при благоприятных условиях процессы цветения могут блокироваться разными путями и на различных этапах. Аналогично этому у одного и того же растения, как мы видели, цветение может быть заблокировано на различных этапах его жизненного цикла. На стадии проростков цветение не наступает, поскольку растение находится в ювенильной фазе и еще не способно реагировать на благоприятные условия окружающей среды. Но даже когда оно достигает готовности к цветению, последнее может предотвращаться неблагоприятными условиями окружающей среды.

Нетрудно представить, что в некоторых случаях цветение не наступает, потому что стимул не синтезировался в листьях, тогда как в других случаях апексы побегов, по-видимому, не способны реагировать на стимул, возможно, вследствие несоответствующих уровней гиббереллинов.

10.8. ЦВЕТЕНИЕ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

До сих пор мы рассматривали физиологические аспекты цветения травянистых растений. Цветению древесных растений присущ ряд характерных особенностей, которые мы вкратце разберем.

Первая важная черта, которую следует отметить, состоит в том, что у разных видов продолжительность периода от заложения до полного развития цветка значительно варьирует. У некоторых видов, таких, как каштан европейский, и многих других позднелетнецветущих деревьев и кустарников, например буддлен, фуксии, зверобоя (*Hypericum*), сирийской розы (*Hibiscus syriacus*), крылоорешника (*Caryopteris*) и т. д., цветки закладываются на побегах текущего года и сразу же после заложения продолжают дальнейшее развитие, как у

травянистых растений, т. е. промежутка между ранней и поздней стадиями развития цветка не наблюдается. Однако у многих других древесных растений, особенно видов умеренных широт, цветков закладывается летом в спящих почках, оформившихся ранее в тот же год, но развитие частей цветка приостанавливается на ранней стадии, и дальнейшее развитие и появление цветка происходит следующей весной. Такое развитие характерно для большого числа обычных европейских древесных растений, например дуба (*Quercus*), ясеня (*Fraxinus*), явора (*Acer*), вяза (*Ulmus*), сосны (*Pinus*), яблони, сливы, персика, черной смородины, крыжовника и др. У таких видов почки, содержащие зачатки цветков, в конце лета или осени входят в состояние покоя, и для снятия этого состояния необходимо воздействие низкими температурами (с. 392). После снятия покоя в результате зимнего охлаждения они становятся способными к распусканию с повышением температуры весной. У некоторых зимне- или ранне-весеннецветущих деревьев и кустарников генеративные почки способны к росту при более низкой температуре, чем вегетативные, так что цветки появляются раньше листьев, например у лещины (*Corylus*), ивы (*Salix*), жасмина (*Jasminum nudiflorum*), персика (*Prunus persica*), вяза, ясеня, дуба и т. д.

Мы располагаем очень скудными данными, касающимися действия внешних факторов на заложение цветков у древесных растений. Это связано главным образом с методическими трудностями экспериментирования на взрослых деревьях. Работать с проростками нельзя, поскольку они находятся в ювенильной фазе и не способны к цветению (см. ниже). Однако действие внешних факторов на цветение древесных растений можно изучить, взяв привои от взрослого дерева и привив их на сеянцы. Таким путем получают маленькие деревья, которые потенциально способны к цветению. У небольшого числа древесных растений заложение цветков, по-видимому, регулируется условиями длины дня. Так, длинные дни необходимы для заложения цветков у березы (*Betula*), эрики (*Erica*) и вереска (*Calluna*). Вместе с тем короткие дни способствуют образованию цветков у кофе арабийского (*Coffea arabica*), черной смородины (*Ribes nigrum*), *Poinsettia* и *Hibiscus*. Заложение генеративных органов у других древесных растений, например сосны, лиственницы, бука, яблони, вишни, сливы, по-видимому, не зависит от фотопериодических условий, которые, однако, оказывают глубокое влияние на вегетативный рост у некоторых из них (с. 390).

Яровизация, по-видимому, не играет важной роли в образовании цветков у древесных растений, за исключением, пожалуй, маслины (*Olea europaea*), у которой цветки закладываются после воздействия низких температур в зимний период.

И все же несомненно, что температура, осадки и почвенное питание оказывают существенное влияние на цветение многих древесных растений. Хорошо известно, что жаркое солнечное лето предыдущего года способствует обильному цветению весной многих древесных видов, и цветение бука в этом смысле является особенно ярким примером. Очевидно, высокая температура, а возможно, и высокая интенсивность света (а отсюда и образование значительного запаса углеводов) благоприятствуют заложению цветков у многих видов древесных растений. Влияние минерального питания на заложение цветков плодовых деревьев уже отмечалось ранее (с. 374).

Известны случаи, когда гиббереллины и синтетические ретарданты роста влияют на заложение генеративных органов у древесных растений. Так, гибберелловая кислота стимулирует «цветение» у ряда хвойных, в том числе у кипариса (*Cupressus*), кипарисовика (*Chamaecyparis*), можжевельника (*Juniperus*) и туи (*Thuja*). В то же время гибберелловая кислота тормозит цветение у яблони, груши, черной смородины, винограда (*Vitis vinifera*), сирени (*Syringa*), фуксии и ряда других древесных растений. Вместе с тем ретарданты роста, такие, как CCC (хлорхолинхлорид) и фосфон D, которые, по-видимому, ингибируют биосинтез гиббереллина в тканях растения, способствуют цветению яблони, груши и азалий (видов рода *Rhododendron*).

10.9. СМЕНА ФАЗ У ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Мы видели, что у «нейтральных» к длине дня однолетних видов переход к цветению регулируется, по-видимому, каким-то внутренним механизмом, природа которого неизвестна, но действие этого механизма проявляется в том, что растение не цветет до тех пор, пока не достигнет определенного размера. Такой «эффект размера» наблюдается также у видов, реагирующих на длину дня или охлаждение, т. е. существует ювенильная фаза, во время которой индуцировать цветение нельзя. Аналогичное явление можно наблюдать у древесных растений, семена которых находятся в ювенильном состоянии, во время которого они активно растут, но остаются вегетативными. Переход к состоянию цветения происходит лишь спустя определенный промежуток времени, который может значительно варьировать у разных видов [от 1 года для некоторых кустарников до 30—40 лет у лесных деревьев, таких, как бук (табл. 10.3)]. Коль скоро цветение индуцировано, оно обычно продолжается каждый год, хотя, как мы уже отмечали, у бука, например, цветение чувствительно к погодным условиям и может происходить нерегулярно. Следовательно, основываясь на способно-

Таблица 10.3

Продолжительность ювенильного периода у лесных деревьев

Вид	Число лет
<i>Pinus sylvestris</i> (сосна обыкновенная)	5—10
<i>Larix decidua</i> (лиственница опадающая)	10—15
<i>Pseudotsuga taxifolia</i> (псевдотсуга)	15—20
<i>Picea abies</i> (ель обыкновенная)	20—25
<i>Abies alba</i> (пихта белая)	25—30
<i>Betula pubescens</i> (береза пушистая)	5—10
<i>Fraxinus excelsior</i> (ясень обыкновенный)	15—20
<i>Acer pseudoplatanus</i> (явор, клен ложноплатановый)	15—20
<i>Quercus robur</i> (дуб черешчатый)	25—30
<i>Fagus sylvatica</i> (бук лесной)	30—40

сти к цветению, мы можем различать *ювенильную* и *взрослую* (зрелую) стадии в жизненном цикле дерева.

Различия между ювенильной и взрослой стадиями определяются не только по способности к цветению, а также и по различным вегетативным особенностям. Так, у определенных видов, таких, как плющ обыкновенный (*Hedera helix*), шелковица (*Morus*), акация, эвкалипт и можжевельник, форма листа в ювенильном и взрослом состояниях крайне различна. У ювенильных деревьев дуба и бука проявляется выраженная тенденция к сохранению отмерших листьев на побегах в течение зимы, тогда как во взрослом состоянии растения нормально сбрасывают листья. У некоторых видов для ювенильной и взрослой стадии характерен различный филлотаксис, например у плюща. Другая морфологическая особенность, изменяющаяся в онтогенезе, — это развитие колючек. В ювенильной стадии деревья лимона обычно более «колючие», чем во взрослой.

Из физиологических различий, наблюдаемых между ювенильным и взрослым состоянием, можно отметить способность черенков к укоренению; характерно, что черенки, взятые от молодых деревьев, легко укореняются, тогда как после достижения растением определенного возраста способность их черенков к укоренению значительно снижается или полностью утрачивается.

Интересной особенностью этих двух стадий является то, что более нижние части дерева остаются в ювенильной стадии, после того как верхние уже достигли определенных черт взрослого состояния. Особенно хорошо это заметно у плюща, у которого в нижних вегетативных частях растения образуются листья пальчатого типа, тогда как верхние части образуют овальные листья и продуцируют массу цветущих побегов.

Явная стабильность ювенильного и взрослого состояний характерна не только для одного и того же растения в целом; черенки, взятые от различных его частей и укорененные, долго сохраняют черты, присущие ювенильному или взрослому состоянию. Хорошо известно, что черенки, взятые, например, у плюща, из ювенильной части растения имеют пальчатые листья с супротивным филлотаксисом и образуют стелящиеся, окрашенные антоцианом побеги с обильными адвентивными корнями, но не цветущие; черенки же взрослых побегов образуют растения с яйцевидными листьями, спиральным филлотаксисом и прямостоячими зелеными побегами, образующими небольшое число адвентивных корней или вообще их не образующими и легко зацветающими (рис. 10.8). Черенки, взятые от взрослых побегов плюща, могут расти в течение многих лет, образуя кустарник, известный в садоводстве под названием «плющевое дерево».

Аналогичное сохранение признаков, присущих ювенильному и взрослому состояниям, наблюдается в экспериментах с прививками. Привои из цветущей части зрелого растения продолжают цвести после прививки на довольно маленькие подвое-сеянцы. Это обычно наблюдается при разведении лесных деревьев таких видов, как береза, лиственница и сосна. Подобным же образом привои от зрелых плодовых деревьев, привитые на подходящие корневые подвои, легко зацветают, тогда как цве-



Рис. 10.8. Черенки, взятые от «взрослой» части плюща (*Hedera helix*), в течение нескольких лет продолжают сохранять «взрослые» признаки, такие, как форма листа, филлотаксис и способность к цветению, хотя высокие температуры способствуют возврату к ювенильному состоянию. (Напечатано с разрешения д-ра L. W. Robinson.)

тение привоев от молодых сеянцев при тех же условиях задерживается.

Между явлением смены фаз, включающим устойчивые генетические изменения, которые могут передаваться через многие поколения клеток, и изменениями, наблюдающимися при яровизации, можно провести интересные параллели. Рассмотрение этого вопроса будет продолжено в гл. 13.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Doorenbos J.* (1965). Juvenile and phases in woody plants, *Encycl. Plant Physiol.*, **15** (1), 1222.
Evans L. T. (ed.), 1969. Induction of Flowering, MacMillan, New York and London.
Lang A. (1965). Physiology of flower initiation, *Encycl. Plant Physiol.*, **15** (1), 1380.
Purvis O. N. (1961). The physiological analysis of vernalization, *Encycl. Plant Physiol.*, **16**, 76.
Zimmerman R. H. (ed.), 1976. Juvenility in woody perennials, *Acta Horticulturae*, 56.
La Physiologie de la Floraison, 1979. Editions du Centre Nationale de la Recherche Scientifique, Paris.

Специальная литература

- Zimmerman R. H. (ed.)*, 1976. Symposium on Juvenility in Woody Perennials, *Acta Horticulturae*, 56.

Глава 11

Покой

11.1. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОКОЯ

Вне экваториальной области существуют сезонные изменения климатических условий, которые наиболее заметны в умеренных зонах. Особенно четко эти изменения выражены в отношении интенсивности света, длины дня, температуры, а часто также и количества осадков. В результате существует регулярное чередование сезонов, благоприятных и неблагоприятных для роста растений, и такое чередование оказывает заметное влияние на особенности жизненного цикла, выработанного тем или иным высшим растением. Необходимость противостоять низким температурам зимой, а в некоторых районах жарким сухим условиям летом создает для растений особые проблемы, и мы сейчас рассмотрим некоторые из способов, с помощью которых растения решают эти проблемы.

Растительные клетки обычно содержат большое количество воды, способной замерзнуть при низких температурах и повредить при этом цитоплазму. Тропические растения очень быстро гибнут при воздействии холода, и, очевидно, что растения умеренных и арктических областей должны адаптироваться к перенесению зимних морозов, иными словами, они должны быть *морозоустойчивыми*. Хотя морозоустойчивость изучалась в течение многих лет, наше понимание ее биохимической основы все еще далеко не полное, и обсуждение здесь этого вопроса уведет нас слишком далеко в сторону.

У многих морозоустойчивых видов общее морфологическое состояние зимой, в сущности, не отличается от такового летом; правда, скорость роста растения снижается или рост вовсе приостанавливается в зимнее время, но точки роста побегов остаются в потенциально активном состоянии и могут расти во время теплых периодов, что характерно для многих двулетних растений. У таких видов все растение, включая апикальные меристемы, относительно морозоустойчиво. Естественно, что у других видов могут наблюдаться значительные различия между летним и зимним состояниями; так, у древесных растений апексы побегов прекращают активный рост, покрываются чешуями, образуя зимние покоящиеся почки. Растение находится в *состоянии покоя*. Многие древесные растения в покое значительно более морозоустойчивы, чем в состоянии активного роста.

Так, сеянцы древесных растений, таких, как лиственница (*Larix*) и *Robinia*, которые продолжают расти до поздней осени, сильно подвержены повреждению ранними заморозками, но если они прекратили рост и их точки роста вошли в состояние покоя, то они сохраняют морозоустойчивость в течение всей зимы.

Причины, по которой покоящаяся почка более устойчива, чем активно растущие ткани, до конца не ясны. Однако абсолютно ясно, что морозоустойчивость покоящихся тканей связана с определенными свойствами цитоплазмы и, в сущности, не зависит от присутствия покровных чешуй, которые, видимо, несут защитную функцию, снижая потери воды — один из вторичных эффектов зимних холодов состоит в том, что затрудняется поддержание адекватного водного баланса в растении. При морозе, и особенно с ветром, растения продолжают терять воду, но компенсировать эти потери не могут, если почва замерзла. Следовательно, в зимних условиях для растения существует значительная опасность погибнуть в результате иссушения, но потеря воды снижается за счет того, что зоны роста покрыты почечными чешуями. У листопадных деревьев сбрасывание листьев осенью сильно уменьшает общую площадь испаряющей поверхности.

Опасность зимнего иссушения и воздействия низкой температуры, по-видимому, повлияли не только на эволюцию древесных растений, но и на форму многих других типов растений. Многие растения в течение всей зимы целиком находятся под землей, например луковицы, клубнелуковицы и корневища; хотя такие органы частично защищены от мороза, они также должны быть защищены от высыхания во время промерзания почвы. Некоторые покоящиеся органы, такие, как луковицы, вероятно, адаптируются к жарким, сухим летним условиям, которые характерны для Средиземноморской области.

Если у многолетних растений развились особые органы, устойчивые к неблагоприятным условиям зимы, то эволюция однолетних растений шла другим путем — они приспособились переносить зиму в форме семян. Семена многих однолетних растений, особенно распространенных на пахотных землях сорняков, прорастают при благоприятных температурных условиях и достаточном содержании почвенной влаги почти сразу же после рассеивания. У других растений семена сразу не прорастают (или прорастает лишь часть семян) и остаются в почве до наступления благоприятных для прорастания условий следующей весной. В данном случае семена обычно намного более морозоустойчивы, чем вегетирующее растение того же вида. Сухие семена могут выдерживать температуру порядка -234°C . Семена некоторых растений, например бобовых [клевера (*Trifolium*), раббитника (*Cytisus*), *Laburnum* и т. д.] фактически

не поглощают воду сразу же после осыпания, что связано с наличием непроницаемой для воды оболочки, и такие семена способны противостоять самым суровым морозам.

Большинство семян впитывает воду вскоре после попадания во влажную почву, но при этом, как уже отмечалось, они необязательно должны немедленно прорасти. Такие напитавшие воду семена менее устойчивы к холоду, чем семена в сухом состоянии, но тем не менее многие из них все еще в значительной степени сохраняют устойчивость, и, по-видимому, некоторые однолетники, которые в состоянии активного роста чувствительны к морозу, могут переносить зиму в форме семян.

11.2. ТИПЫ ПОКОЯ

Покой можно определить как состояние, в котором рост временно прекращен. У некоторых видов прекращение роста непосредственно связано с неблагоприятными условиями температуры и освещения; так, многие пастбищные злаковые вегетируют во время мягкой зимы и прекращают рост, только когда температура падает приблизительно до 0—5°C. Точно так же некоторые однолетние сорняки, например крестовник (*Senecio vulgaris*), виды *Cerastium* и пастушья сумка (*Capsella bursa-pastoris*), прекращают рост только на самый холодный период зимы. В таких случаях покой растений, очевидно, вызывается неблагоприятными внешними условиями, и тогда мы говорим о *вынужденном* или *принудительном* покое.

Однако часто неблагоприятные условия не являются непосредственной причиной покоя. Так, многие древесные растения формируют зимующие почки летом и осенью, когда температура и условия освещения еще благоприятны и до начала зимы еще далеко. У таких древесных растений причины покоя, по-видимому, заключаются в самих тканях почек, и мы, следовательно, говорим о *внутреннем*, или *спонтанном*, покое. Этот тип покоя характерен также для многих семян. Так, если свежесобранные зерна ячменя посеять в теплых влажных условиях, то большой процент их не прорастет. Однако если несколько месяцев хранить ячмень в сухом виде, а затем посеять при тех же, что и в предыдущем случае условиях, то семена быстро прорастут. Следовательно, непроращение свежесобранных зерен ячменя связано не с внешними, неблагоприятными для роста условиями, а зависит от каких-то причин внутри самого семени.

Внутренний, или спонтанный, покой характерен не только для почек и семян, но и для других типов зимующих органов, таких, как корневища, клубнелуковицы и клубни.

11.3. ПОКОЙ ПОЧЕК У ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Большинство древесных растений умеренных широт, как хвойных, так и двудольных, обладает хорошо выраженным покоем или зимней фазой во время годового цикла роста, что обычно сопровождается развитием зимующих почек. Типичные зимующие почки имеют «телескопические» почечные чешуи и листовые примордии в апикальной зоне, что объясняется остановкой нормального растяжения междоузлия. У представителей некоторых родов (например, береза, бук, дуб), имеющих прилистники, такой «телескопизм» апикальной зоны ведет к образованию зимующих почек, так как, накладываясь друг на друга, прилистники образуют почечные чешуи. У других видов функцию защитных чешуй выполняют листья, которые могут быть слегка видоизмененными, как у видов калины *Viburnum*, или значительно видоизмененными, так что часто представлены только основанием листа, как у клена, ясеня, яблони

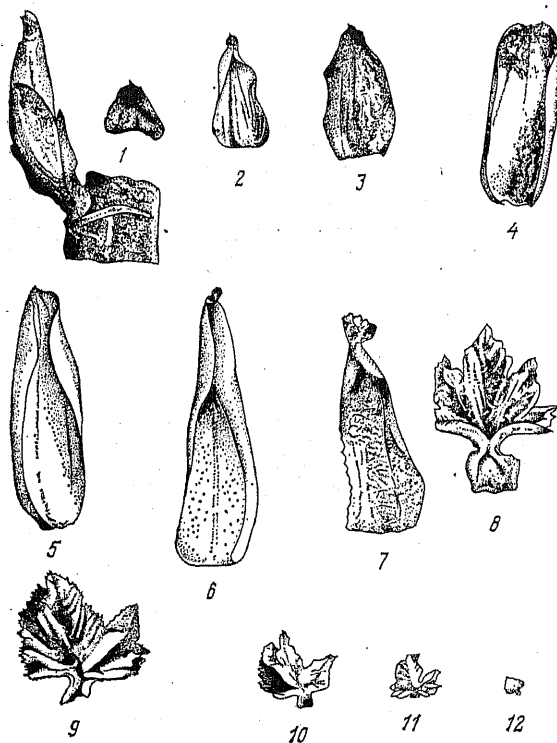


Рис. 11.1. Почка смородины (*Ribes*), а также чешуи и листочки препарированной почки. (J. H. Priestley, L. I. Scott, *An Introduction to Botany*, 3rd ed., Longmans, Green and Co., London, 1955.)

и смородины (рис. 11.1). Во время развития таких почек в определенных листовых примордиях наблюдается более сильный маргинальный рост, чем во время развития обычного листа, в результате чего развитие листовой пластинки подавляется и такие листовые примордии дают начало почечным чешуям. Развитие более молодых листовых примордиев, формирующихся под чешуями, приостанавливается на ранней стадии, и, когда почка трогается в рост следующей весной, из них развиваются нормальные листья. У некоторых деревьев, например у сосны, рост почек может продолжаться несколько месяцев — с июня по сентябрь. У определенных деревьев терминальная почка не образуется, поскольку рост побега определяется отмиранием и опадением апикальной части, а рост впоследствии продолжает самая верхняя пазушная почка. Для таких деревьев [к которым относятся липа (*Tilia*), вяз (*Ulmus*), каштан (*Castanea*), белая акация (*Robinia*) и айлант (*Ailanthus*)] характерен *симподиальный* (в противоположность моноподиальному) рост.

Только что заложившаяся почка может быть индуцирована к росту различными обработками, включая дефолиацию, как искусственную, так и происшедшую в результате нападения насекомых. Следовательно, на данной стадии сами по себе терминальные почки не обладают внутренним покоем, но их рост, по-видимому, ингибируется зрелыми листьями побега. Латеральные почки также могут ингибироваться листьями или главной апикальной зоной активно растущих побегов, и, таким образом, их рост в большей степени сдерживается коррелятивным ингибированием, а не внутренним покоем. Эта стадия развития почки называется *летним покоем* или *предпокоем*. Позднее у многих видов почки входят в состояние, называемое *глубоким покоем*, *зимним покоем*, или *перерывом*. После вхождения почек в это состояние они уже не способны к росту при дефолиации побегов, т. е. находятся теперь в состоянии внутреннего покоя, и их рост сдерживается не просто внешними условиями или ингибиторным влиянием в пределах самого растения, как это было в случае предпокоя.

После определенного периода глубокого покоя почки становятся способными к возобновлению роста; происходит это в конце зимы или начале весны, когда внешние условия, особенно температура, благоприятны для роста. Следовательно, в этой стадии почки больше не находятся в состоянии внутреннего покоя, но тем не менее могут не расти из-за низких температур в условиях открытого грунта. Эта фаза называется *послепокоем*. Теперь рассмотрим некоторые внешние факторы, регулирующие развитие и прерывание покоя у древесных растений умеренных широт, из которых наиболее важными являются длина дня и температура.

11.3.1. Развитие покоя почек

Одним из важнейших факторов, влияющих и регулирующих индукцию покоя у древесных растений, является длина дня. У большинства видов, изученных в этом отношении, длинные дни ускоряют вегетативный рост, а короткие дни вызывают прекращение роста растяжением и образование зимующих почек у сеянцев древесных растений (рис. 11.2). Однако ряд обычных культивируемых плодовых деревьев (груша, яблоня, слива) и некоторые другие виды, в том числе представители семейства маслинных, по-видимому, относительно нечувствительны к изменениям длины дня.

Сеянцы некоторых видов, например акации белой (*Robinia pseudacacia*), березы (*Betula pubescens*) и лиственницы (*Larix decidua*), могут сохранять непрерывный рост по крайней мере в течение 18 мес в условиях ДД в теплой оранжерее, тогда как на КД они прекращают рост через 10—14 дней. Вместе с тем такие виды, как явор (*Acer pseudoplatanus*), конский

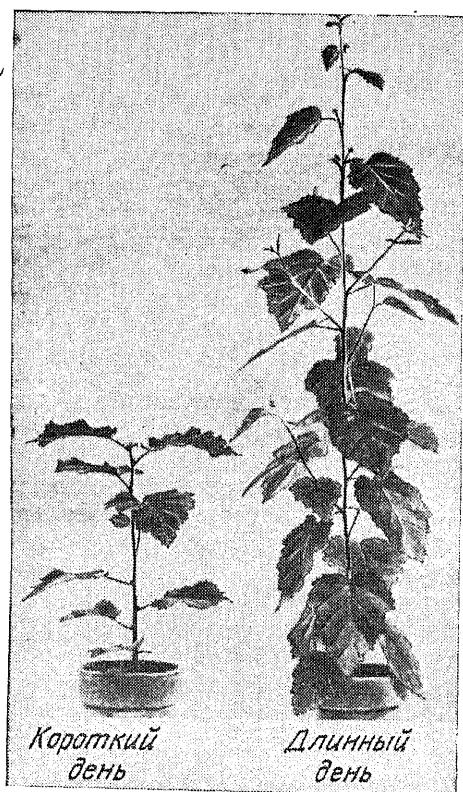


Рис. 11.2. Фотопериодическая регуляция покоя почек у сеянцев березы (*Betula pubescens*). Растения, перенесенные в условия короткого дня (слева), прекратили рост и образовали зимующие почки, тогда как сеянцы, находящиеся в условиях длинного дня, активно продолжают рост в течение долгого времени.

каштан (*Aesculus hippocastanum*) и амбровое дерево (*Liquidambar styraciflua*), задерживают развитие покоя на ДД, но неограниченно поддерживать рост в этих условиях они не могут. Для таких видов, которые могут поддерживать непрерывный рост в условиях ДД, по-видимому, должна существовать определенная критическая длина дня, ниже которой происходит индуцирование покоя, а выше — покой не наступает.

Так же как в случае реакций цветения травянистых растений, фотопериодические реакции сеянцев древесных, по-видимому, в большей степени зависят от длины темнового, чем светового периода, и, если длинный темновой период прерывается коротким «световым разрывом», эффект темнового периода снимается и покой задерживается. Однако эффект в данном случае менее выраженный, чем в реакциях цветения. Наибольшим эффектом такого светопрерывающего действия обладает красная область спектра, что говорит о возможном участии фитохрома.

Реакция сеянцев древесных растений зависит от условий длины дня, которым подвергаются листья. У явора, так же как и у травянистых растений, полностью распустившиеся листья наиболее чувствительны к длине дня, но у сеянцев березы даже самые молодые листочки апикальной зоны проявляют чувствительность к фотопериоду.

Насколько важны эти фотопериодические реакции в детерминировании образования зимующих почек и возникновения покоя в природе? Было установлено, что сезонное уменьшение длины дня играет важную роль в детерминации наступления покоя у сеянцев тех видов, которые обычно продолжают активный рост осенью, например *Larix decidua*, *Populus* spp., *Robinia pseudacacia*. Правда, очень часто можно обнаружить, что старые растения имеют намного более короткий период роста растяжением, чем сеянцы тех же видов, и прекращают рост уже в июне или июле, когда естественные фотопериоды еще достаточно длинные. В таком случае сомнительно, чтобы сокращение длины дня играло важную роль в детерминации образования покоящихся почек, и более вероятно, что какие-то изменения в содержании питательных веществ или в гормональном балансе, возникающие внутри самого растения, определяют период роста и наступления покоя. Однако, как мы видели, зимующие почки вначале находятся в состоянии предпокоя и только потом входят в глубокий покой; возможно, что сокращение длины дня осенью играет роль в переходе почек от предпокоя к глубокому покою.

Было обнаружено, что опадению листьев у некоторых древесных растений способствуют короткие дни, а у деревьев, растущих вблизи уличных фонарей, иногда наблюдается задержка листопада. Однако в природе низкие температуры и, воз-

можно, низкая интенсивность света, играют по крайней мере не менее важную, чем длина дня, роль в детерминации начала старения листа и его опадения.

Помимо отмеченных морфологических изменений, связанных с индукцией покоя короткими днями, происходят также и биохимические изменения, отражающие увеличение морозоустойчивости. Сеянцы черной смородины (*Ribes nigrum*) и белой акации (*Robinia pseudacacia*), подвергнутые КД, заметно морозоустойчивее, чем сеянцы, выросшие на ДД. Акклиматизация к холоду у *Cornus stolonifera* зависит от воздействия как КД, так и пониженной температуры.

Хорошо известно, что для широко распространенных видов древесных растений, таких, как *Pinus silvestris*, *Picea abies*, в отношении фотопериодической реакции характерны заметные экотипические различия в зависимости от широты и высоты места произрастания. Северным расам для активного роста растяжением требуются более длинные фотопериоды, чем более южным расам, адаптированным к более коротким естественным фотопериодам. Этот факт наводит на мысль, что древесные растения лучше приспособлены к естественным условиям длины дня и что последние, видимо, играют важную регулирующую роль в сезонном цикле роста и покоя.

11.3.2. Выход почек из покоя

Терминальные зимующие почки, формирующиеся летом или осенью, обычно остаются в покое до следующей весны, когда они распускаются, образуя новые побеги. С течением зимы покой почек ослабевает, что можно легко продемонстрировать, срезав веточки липы (*Tilia*), явора (*Acer pseudoplatanus*), тополя (*Populus*) и ивы (*Salix*) в различное время зимы и поставив их в воду в теплой комнате или оранжерее. Обнаружится, что ветви, взятые в октябре, ноябре и начале декабря, обычно остаются в покое при перенесении в теплые условия. У веточек, собранных в январе, довольно большая часть почек распустится через 2—3 нед, а при более поздних сроках сбора, например в феврале или марте, почки раскрываются еще быстрее после помещения их в тепло.

Для снятия покоя почек большинство древесных растений должно быть подвергнуто охлаждению, что можно показать, выращивая небольшие деревья, например тополя или явора, в горшках. Когда осенью растения войдут в состояние покоя, часть из них следует держать зимой вне помещения, а часть в теплой комнате или оранжерее. Весной почки молодых деревьев, находившихся на улице, распускаются обычным путем, но почки растений, содержавшихся в тепле, все еще будут в покое

и могут оставаться так в течение лета; в конце концов определенная часть почек может погибнуть, так и не возобновив роста. Для снятия покоя почек наиболее эффективны температуры в пределах 0—5 °С и период охлаждения от 260 до 1000 ч. В районах с холодными зимами потребность в охлаждении к весне обычно полностью удовлетворяется, но в условиях теплого климата Калифорнии или Южной Америки, где зимы очень мягкие, можно столкнуться с трудностями при культивировании определенных видов плодовых, например персика (*Prunus persica*), поскольку потребность почек в охлаждении не может быть удовлетворена, в результате чего происходит задержка и нерегулярное распускание почек весной.

Нужно отметить, что, хотя охлаждение необходимо для снятия покоя почек у многих растений, для последующего роста почкам необходимо тепло. Часто к январю необходимый период охлаждения будет достаточным, но почки не трогаются в рост, поскольку температуры еще слишком низкие, т. е. они остаются в фазе послепокоя. Таким образом, время распускания почек весной обычно определяется наступлением теплых дней.

У большинства видов древесных растений умеренных северных широт, изученных в этом отношении, почки, полностью вошедшие в состояние покоя, в результате индукции КД уже нельзя индуцировать к росту путем перемещения на ДД, но обычно покой может быть снят путем охлаждения. Однако у небольшого числа видов неиндуцированные почки можно индуцировать к росту, выращивая на ДД или при непрерывном освещении. Так, если безлистные сеянцы бука (*Fagus silvatica*), березы (разные виды) или лиственницы (*Larix decidua*) осенью поместить в теплую оранжерею с непрерывным освещением, то их почки вскоре распустятся.

С первого взгляда кажется, что реакция покоящихся почек на фотопериод противоречит правилу, что листья являются органами фотопериодической «перцепции», а апикальная меристематическая зона нечувствительна к длине дня. Однако следует помнить, что зимующие почки содержат хорошо развитые листовые примордии и что различия между видами, такими, как бук и другими, следовательно, в первую очередь относятся к возрасту, в котором листья становятся чувствительными к фотопериоду.

Не ясно, какое значение имеет фотопериодическая регуляция распускания почек в природе, но есть данные, свидетельствующие о том, что распускание почек (*Fagus silvatica*), по-видимому, зависит от длины дня весной, хотя во многих районах температура также является лимитирующим фактором для этого вида. У *Rhododendron* распускание почек, вероятно, также определяется длиной дня.

11.3.3. Покой других органов

Покой характерен для различных типов органов, в том числе для корневищ, клубнелуковиц, луковиц, клубней и зимующих почек водных растений. У водных растений *Stratiotes*, *Hydrocharis*, *Utricularia* покой зимующих почек индуцируется короткими днями и высокой температурой. Короткие дни также способствуют образованию зимующих почек у насекомоядного растения *Pinguicula grandiflora*, а покой этих почек снимается охлаждением.

У луковиц *Allium sepa*, напротив, возникновению покоя способствуют ДД, так что луковицы развиваются и «поспевают» летом. Период покоя у луковиц *Allium* значительно сокращается, если их хранить в прохладных условиях. Корневища ландыша (*Convallaria majalis*) обычно входят в покой летом, и для снятия покоя необходим недельный период охлаждения при 0,5—2 °С или трехнедельный при 5 °С. Аналогично этому, когда клубнелуковицы гладиолусов находятся в почве в теплых условиях, они не растут, но достаточно всего лишь 24 ч при температуре 0—5 °С, чтобы нарушить их покой.

Хотя для прерывания покоя у некоторых культивируемых сортов картофеля требуется охлаждение, это, по-видимому, не распространяется на все сорта.

11.3.4. Способы искусственного прерывания покоя почек

Существует большое число воздействий, особенно с применением химических веществ, которыми можно прервать состояние покоя. Один из простейших способов прерывания покоя древесных растений заключается в погружении побегов в теплую воду (30—35 °С) на 9—12 ч; такой прием используется цветоводами, когда нужно «заставить» цветковые почки у сирени или форзиции распуститься ранее положенного срока. Обработка парами эфира также эффективна в преодолении покоя почек сирени и корневищ ландыша. Таким путем цветы можно получить в начале зимы, что часто используется цветоводами. Среди других веществ, являющихся весьма эффективными для прерывания покоя, можно отметить тиомочевину и этиленхлоргидрин, с помощью которых можно преодолеть покой почек у большого числа древесных растений, а также у клубней картофеля и корневищ ревеня.

Ниже будет показано, что различные регуляторы роста, в том числе гиббереллины, цитокинины и этилен, также способны прерывать покой почек и семян многих древесных растений.

11.4. ПОКОЙ СЕМЯН

Морфологически семя представляет собой зародыш, окруженный одним или несколькими покровами, наиболее важным из которых является семенная кожура, развивающаяся обычно из интегументов семязачатка. Некоторые семена содержат хорошо развитый эндосперм, лежащий внутри семенной кожуры, при этом эндосперм может окружать зародыш или располагаться рядом с ним. Функционально семя является «зачатком» или единицей распространения, т. е. органом размножения. У многих видов семена выделяются из плодов и отдельные семена становятся единицами распространения. У других видов плоды могут содержать по одному семени, которые находятся внутри оболочки плода (перикарпа), и, опадая, сам плод становится единицей распространения. Примерами служат семянки, орехи, зерновки и т. д., точные определения которых здесь нас не интересуют. Хотя эти последние структуры морфологически отличаются от семян, они выполняют ту же биологическую функцию, что и семена, т. е. функцию зачатков, и, следовательно, удобнее рассматривать все такие структуры, как семена, хотя это будет и не совсем верно.

Далее мы увидим, что покой семян имеет много общего с покоем почек и других органов, однако наличие семенных оболочек является особенностью, не встречающейся у почек; мы рассмотрим несколько типов семенного покоя, которые, по-видимому, не соответствуют ни одной из форм покоя почек.

11.4.1. Твердосемянность

Семена представителей некоторых семейств, в частности Leguminosae, Chenopodiaceae, Malvaceae, Geraniaceae, имеют семенную кожуру, непроницаемую для воды, поэтому такие семена могут долго лежать в почве, прежде чем прорастут. Чтобы такие семена начали поглощать воду, их можно, например, перетереть с песком, кратковременно обработать концентрированной серной кислотой и т. д., что позволяет удалить наружный водонепроницаемый слой семенной кожуры и обеспечить доступ воды к зародышу. Семеноводы обрабатывают семена клевера путем вращения их в барабане с прокладкой из карборунда. Вероятно, в естественных условиях активность почвенных микроорганизмов постепенно разрушает наружный слой семенной кожуры, обеспечивая возможность поглощения воды.

11.4.2. Недоразвитость зародыша

В некоторых семенах зародыш остается недоразвитым даже после их опадения. Такие семена не будут прорастать до тех пор, пока зародыш не достигнет определенной степени разви-

тия. Это относится к семенам ветреницы (*Anemone nemorosa*), чистяка весеннего (*Ficaria verna*), калужницы болотной (*Caltha palustris*), ясеня обыкновенного (*Fraxinus excelsior*) и других видов. Чтобы произошло дальнейшее развитие, семена должны напитать воду и находиться при благоприятных температурных условиях. Время, необходимое для полного развития зародыша, может варьировать от 10 сут у калужницы до нескольких месяцев у ясеня.

11.4.3. Послеуборочное дозревание при сухом хранении

Семена многих видов не прорастают, если их посеять сразу же после сбора урожая, хотя зародыши в таких семенах полностью развиты. Однако если их хранить в сухом виде при обычной комнатной температуре, то они постепенно выходят из состояния покоя и становятся способными к прорастанию при подходящих условиях (рис. 11.3). Этот эффект называется *послеуборочным дозреванием при сухом хранении* и обнаружен у некоторых зерновых, таких, как ячмень, пшеница, овес и рис. Продолжительность периода покоя может колебаться от нескольких недель до нескольких месяцев. Другие виды, обладающие таким типом покоя, включают многие злаковые, горчицу черную (*Brassica nigra*), различные виды ослинника (*Oenothera*) и культивируемые сорта салата.

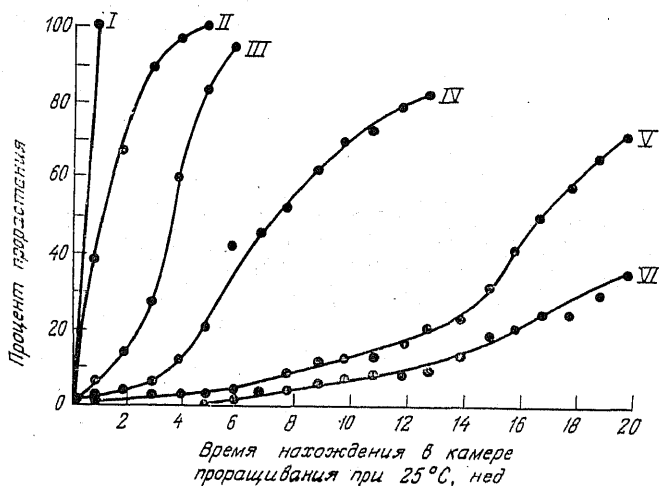


Рис. 11.3. Влияние послеуборочного дозревания при сухом хранении в условиях комнатной температуры на скорость прорастания семян *Impatiens balsamina*. (W. Croker, Growth of Plants, Reinold, New York, 1949.)

Продолжительность хранения: I — 43 нед; II — 25 нед; III — 16 нед; IV — 9 нед; V — 4 нед; VI — не хранившиеся.

Не известны ни причины, вызывающие этот тип покоя, ни изменения, которые происходят во время периода хранения и которые в конечном итоге выводят семена из состояния покоя. По-видимому, процессы, протекающие в период послеуборочного дозревания, не носят метаболического характера, поскольку они происходят даже в сухих семенах, когда уровень метаболизма крайне низок.

Этот тип покоя имеет большое экономическое значение. В районах, где для уборочного периода характерна влажная погода, покой семян играет положительную роль, поскольку у сортов, обладающих таким покоем, наблюдается меньшее прорастание зерна в колосе. С этой точки зрения покой — экономически выгодный признак, по которому селекционеры ведут преднамеренный отбор. Вместе с тем для производства солода из ячменя покой семян часто является большой помехой, так как в течение нескольких недель после уборки урожая семена невозможно прорастить.

11.4.4. Светочувствительные семена

Одной из наиболее интересных форм покоя, которой в последнее время уделялось значительное внимание, обладают светочувствительные семена. У большого числа видов семена, чтобы прорасти, должны подвергнуться освещению; к числу таких видов относятся табак (разные виды), наперстянка пурпурная (*Digitalis purpurea*), кипрей мохнатый (*Epilobium hirsutum*), дербенник иволистный (*Lythrum salicaria*), щавель курчавый (*Rumex crispus*) и многие другие. Вместе с тем у некоторых видов свет подавляет прорастание семян, хотя этих видов значительно меньше, чем видов, у которых свет способствует прорастанию; к числу известных растений, обладающих светочувствительными семенами, относятся, например, чернушка (*Nigella*), *Nemophila*, *Phacelia* и однолетний флокс (*Phlox drummondii*).

Светочувствительные семена будут реагировать на свет только в набухшем состоянии. Продолжительность освещения, необходимая для прорастания, часто может быть очень небольшой; например, семена салата дают высокий процент прорастания после 1—2-минутного освещения, а у дербенника иволистного заметный стимулирующий эффект на прорастание семян оказывает вспышка света в течение всего 0,1 с. Реакции светочувствительных семян сильно зависят от температуры, и многие светочувствительные семена при температуре, скажем, 25 °C не обязательно подвергнуть освещению, тогда как при более низких температурах они прорастают и в темноте, например некоторые сорта салата. Если на светочувствительные семена определенных видов ежедневно воздействовать меняющимися температу-

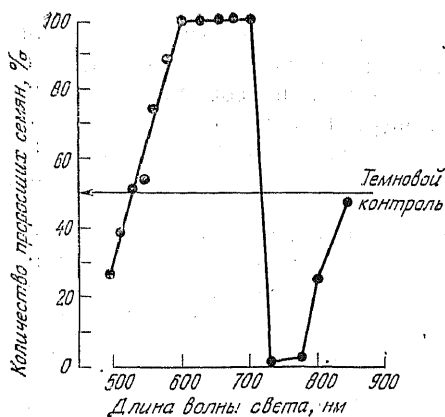


Рис. 11.4. Влияние красного и дальнего красного света на прорастание семян салата-латука. (L. H. Flint, E. D. McAlister, Smithsonian Inst. Misc. Collections, 96, 1—8, 1937.)

рами, например между 15 и 25 °С, то можно индуцировать у них прорастание без применения света. Освещение можно заменить обработкой некоторыми неорганическими соединениями, особенно нитратами, или органическими, например тиомочевинной.

У многих видов свежесобранные семена являются светочувствительными, но в период хранения постепенно «теряют» эту особенность и в конечном итоге дают почти 100%-ную всхожесть в полной темноте, например семена светочувствительных сортов салата. По-видимому, изменения, происходя-

щие во время послеуборочного дозревания при сухом хранении, каким-то образом устраняют необходимость освещения.

Как мы уже видели, изучение реакций светочувствительных семян салата сыграло ключевую роль в открытии фитохрома (гл. 8, с. 302). Было показано, что красная область спектра ускоряет, а дальняя красная ингибирует прорастание семян салата (рис. 11.4). Если красный и дальний красный давать попеременно, то прорастание семян будет зависеть от природы последнего облучения. Так, когда фитохром переходит в *P* дк-форму, он, очевидно, вызывает цепь процессов, которые в конце концов приводят к прорастанию. Было обнаружено, что сходные реакции на красный/дальний красный проявляются и у светочувствительных семян других видов, и вполне возможно, что фитохром вообще включен в механизм прорастания, оперирующий в светоиндуцируемых семенах.

Светоингибируемые семена изучены значительно слабее, но в настоящее время кажется вполне вероятным, что одна и та же фитохромная система функционирует в семенах обоих типов и что в светоингибируемых семенах эффект дальнего красного настолько сильный, что преобладает над эффектом красного. Так, было показано, что светоингибирование семян *Nicotiana* обусловлено главным образом дальней красной областью спектра; вместе с тем ускоряющий прорастание эффект красного света либо незначительный, либо вообще не проявляется у этих семян.

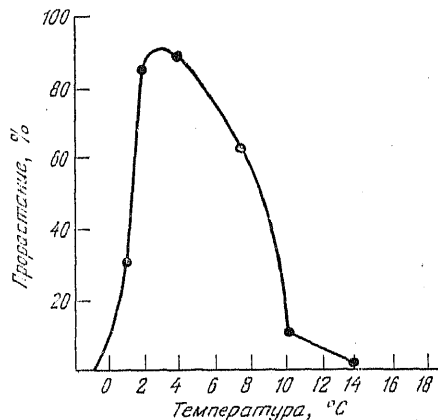


Рис. 11.5. Влияние температуры охлаждения на покой семян яблони (проращиваемых спустя 85 сут охлаждения при указанных температурах). (P. G. de Haas, H. Scharder, Zeitschrift für Pflanzen-zuchtung, 31, 457, 1952.)

11.4.5. Снятие покоя охлаждением

Садоводы давно знают, что семена многих видов, посеянные в теплых условиях, не прорастают, а долгое время лежат в почве, находясь в состоянии покоя; однако если они посеяны в открытый грунт осенью и подверглись действию зимних условий, то они прорастут следующей весной.

Такое поведение семян привело к внедрению в сельскохозяйственную практику метода «стратификации» семян, т. е. помещения их между слоями песка и оставлению их на зиму на открытом воздухе. «Стратифицированные» семена выходили из

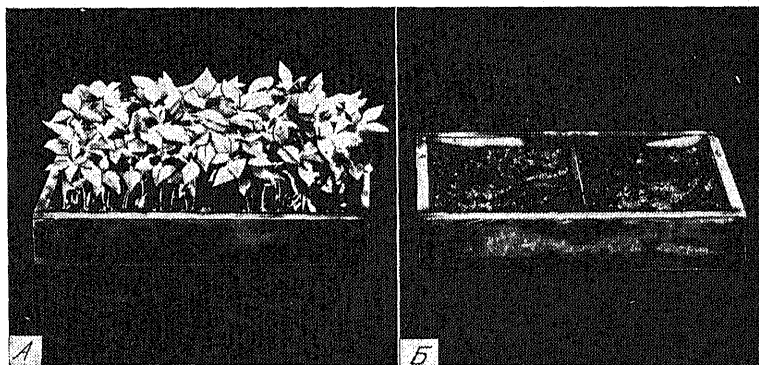


Рис. 11.6. Влияние зимнего охлаждения на покой семян *Rhodotypos*. (Фотография предоставлена д-ром Lela V. Barton.)
 А. Семена, находившиеся в течение зимы вне помещения. Б. Семена, находившиеся во время эксперимента в теплой оранжерее.

состояния покоя и быстро прорастали весной (рис. 11.6). Из этого наблюдения ясно, что воздействие зимних холодов в какой-то степени необходимо для прерывания покоя семян многих видов.

Одно время считалось, что покой таких семян обусловлен твердыми и непроницаемыми оболочками и что замораживание необходимо для разрушения этих оболочек. Однако сейчас известно, что промораживание не является необходимым, и на самом деле температуры чуть выше точки замерзания (0—5°C) эффективнее, чем более низкие (рис. 11.5). Кроме того, семена многих видов, для которых необходимо охлаждение, в действительности не имеют твердых оболочек, например семена яблони или березы.

Виды, семена которых требуют охлаждения, очень разнообразны (табл. 11.1) и включают как древесные, так и травянистые растения. У некоторых из них семена обязательно нуждаются в охлаждении, например у ясеня (*Fraxinus excelsior*), тогда как у других, например сосен, период предварительного охлаждения, хотя и не существенен, но все же увеличивает и ускоряет прорастание. Следует отметить, что для эффективности охлаждения семена должны быть в набухшем состоянии, охлаждение же сухих семян неэффективно. Минимальный период охлаждения, необходимый для снятия покоя, варьирует в зависимости от вида, но обычно исчисляется несколькими неделями. У семян некоторых видов в состоянии покоя находится сам зародыш, и не индуцированный охлаждением такой зародыш прорастает с трудом; примером являются семена рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia*). В то же время у других видов семена будут прорастать, если удалить семенную кожуру, и в охлаждении нуждаются только интактные семена, например семена явора (*Acer pseudoplatanus*). Сеянцы, выращенные из неохлажденных семян, часто бывают карликовыми, следовательно, обладают замедленным ростом и имеют «короткие междоузлия». Карликовость сеянцев можно снять охлаждением или обработкой гибберелловой кислотой.

Для плодов дуба (*Quercus*) и калины *Viburnum* характерен «покой эпикотилия»; осенью такие семена прорастают и развивают корень без какого-либо предварительного охлаждения, однако развитие эпикотилия зависит от охлаждения т. е. эпикотиль, а не корень обладает покоем.

Небольшое число видов имеет «двулетние семена», названные так потому, что они обычно прорастают только на вторую весну после опадения. Определенные типы двулетних семян имеют твердые оболочки, равно как и требуют охлаждения, например боярышник (*Crataegus*) и кизильник (*Cotoneaster*); твердые оболочки предохраняют зародыш от поглощения воды сразу же после опадения, и, следовательно, первая зима не сни-

Таблица 11.1

**Древесные растения, семена которых требуют охлаждения
для снятия состояния покоя**

<i>Acer</i> (клен, разные виды)
<i>Betula</i> (береза, разные виды)
<i>Cornus florida</i> (кизил)
<i>Corylus avellana</i> (лещина)
<i>Crataegus</i> (боярышник, разные виды)
<i>Fagus sylvatica</i> (бук)
<i>Fraxinus</i> (ясень, разные виды)
<i>Hamamelis virginiana</i> (гамамелис)
<i>Juglans nigra</i> (орех черный)
<i>Liriodendron tulipifera</i> (тюльпанное дерево)
<i>Malus</i> (яблоня, разные виды)
<i>Picea</i> (ель, разные виды)
<i>Pinus</i> (сосна, разные виды)
<i>Prunus</i> (слива, разные виды, включая персик)
<i>Rosa</i> (роза, разные виды)
<i>Sequoiadendron giganteum</i> (секвойядендрон гигантский)
<i>Tilia</i> (липа, разные виды)
<i>Thuja occidentalis</i> (туя западная)
<i>Vitis</i> (виноград, разные виды)

мает покой. Однако следующим летом твердые оболочки становятся проницаемыми для воды в результате активности почвенных микроорганизмов. Когда такие набухшие семена вступают в следующую зиму, покой прерывается, и они становятся способными к прорастанию следующей весной.

У других видов причина наличия «двулетних» семян может быть иная. Так, например, у семян ландыша (*Convallaria*) и купены (*Polygonatum*) период охлаждения приводит к росту корня, но развитие эпикотилиа наступает только после второй зимы.

11.4.6. Значение оболочек в покое семян

Как было обнаружено, у многих видов семенные оболочки играют важную роль в покое семян. Уже отмечалось, что хотя у семян некоторых видов, нуждающихся в охлаждении, покоем обладают зародыши, тем не менее у других видов покой характерен только для *интактных* семян, а изолированные зародыши будут прорастать без охлаждения, если удалена семенная кожура. Сходным образом светочувствительные семена некоторых видов, таких, как береза и салат, будут прорастать в темноте, если семенные покровы удалены или даже только надрезаны. Будут прорастать и семена определенных видов, требующие послеуборочного дозревания при сухом хранении, если удалить у них семенные покровы; например, при удалении пленки (зерновки) у ячменя, пшеницы, овса и риса их семена про-

растут вскоре после уборки урожая, если же оболочки оставить нетронутыми, то такие семена требуют нескольких недель для созревания. Следовательно, семенные оболочки играют важную роль по крайней мере в трех различных типах покоя, и действительно во всех случаях, где сам зародыш не находится в состоянии покоя, покой интактных семян зависит от наличия оболочек, в том числе семенной кожуры, а также эндосперма и перикарпа в некоторых семенах. Это заключение, естественно, поднимает вопрос о том, каков же механизм действия семенных оболочек.

Возможно, что семенные оболочки служат чисто физическим барьером, препятствующим газообмену между зародышем и внешней средой. Вряд ли действие семенной оболочки обусловлено накоплением двуокси углерода внутри семени, поскольку прорастание семян салата на самом деле *стимулируется* в атмосфере этого газа. Вместе с тем некоторые типы семян нуждаются в кислороде в большей степени, чем активно растущие растения тех же видов; это наводит на мысль, что семенные оболочки препятствуют поглощению кислорода. Семенные оболочки у тыквы обыкновенной (*Cucurbita pepo*) намного менее проницаемы для кислорода, чем для углекислого газа. Семена определенных видов, например березы и не требующих созревания зерновых, можно индуцировать к прорастанию либо надрезанием или удалением оболочек, либо содержанием при высокой концентрации кислорода. Изучение дыхания прорастающих семян гороха наводит на мысль, что начальные стадии прорастания до прорыва семенной кожуры протекают в анаэробных условиях, после чего происходит заметное увеличение поглощения кислорода (с. 415). Следовательно, ряд данных подтверждает точку зрения, что семенные оболочки могут ограничивать поглощение кислорода.

Невозможность поглощения кислорода, особенно наряду с высокими температурами, по-видимому, является важным фактором, обуславливающим состояние так называемого вторичного покоя. Например, не находящиеся в покое семена *Xanthium* становятся покоящимися, если их закопать в глину (препятствующую газообмену) и держать там при 30 °C в течение нескольких недель. Вторичный покой может наблюдаться также у ряда других видов, в том числе у представителей семейств Poligonaceae и Rosaceae, например у яблони и груши. Во всех этих случаях вторичный покой снимается охлаждением, поэтому вероятно, что вторичный покой представляет собой явление, противоположное созреванию.

Вторичный покой имеет большое сходство с первичным, в связи с чем Вегис и другие авторы предположили, что ограничение возможности поглощения кислорода наряду с высокой температурой служит причиной обычного покоя семян, а, в сущ-

ности, также и почек. Таким образом, Вегис пришел к заключению, что зародыши развивающихся семян испытывают дефицит кислорода, поскольку они окружены семенными оболочками и материнскими тканями, и постулировал, что в условиях такого частичного анаэробно-окислительного расщепления (через цикл трикарбоновых кислот и «терминальное окисление»), необходимого для роста у большинства видов, не происходит. Вместо нормального окислительного расщепления продуктов гликолиза, таких, как фосфолипидная кислота, происходит переключение на другие пути метаболизма, приводящие к образованию жирных кислот и жиров, имеющих тенденцию накапливаться в покоящихся тканях.

О том, что дефицит кислорода в семени может служить фактором, обуславливающим покой, предположили на основе работ с семенами риса, которые входят в состояние покоя сразу же после их уборки, а в процессе хранения постепенно выходят из этого состояния. Находящиеся в покое семена риса можно индуцировать к прорастанию удалением пленки, что указывает на важное значение оболочки этих семян. Хранение в атмосфере кислорода значительно сокращает период покоя, по-видимому, вследствие включения некоторых окислительных реакций в процессы созревания во время хранения. Однако Робертс, испытывавший действие различных ингибиторов дыхания (в том числе ингибиторов терминального окисления, цикла Кребса и гликолиза), получил неожиданный результат: оказалось, что эти ингибиторы *стимулируют* прорастание покоящихся семян риса. Робертс предположил, что, прежде чем наступит прорастание, должны произойти несколько окислительных реакций и что эти реакции конкурируют за кислород с процессами дыхания, включающими гликолиз, цикл Кребса и систему терминального окисления в условиях низкого уровня кислорода, содержащегося в семенах; следовательно, при ингибировании этих процессов дыхания различными веществами будет высвобождаться большое количество кислорода для других окислительных реакций, которые, по предположению Робертса, могут включать «пентозофосфатный путь» углеводного метаболизма. Имеются достаточно обоснованные данные, что прекращение покоя у семян некоторых видов сопровождается переключением с гликолитического пути на пентозофосфатный. Далее предполагается, что действие ингибиторов дыхания в стимуляции прорастания осуществляется через ингибирование фермента каталазы, которая расщепляет перекись водорода. Сохраненная таким путем перекись увеличивает, как предполагается, активность пентозофосфатного пути.

Имеется также ряд данных, свидетельствующих о том, что эффект семенных оболочек может быть связан с механическим сопротивлением росту корешка. Так, некоторые типы покоя-

щихся семян будут прорасть, если семенная оболочка удалена в зоне корешка, но если такие семена поместить в высокоосмотический раствор маннита (0,2 М), снижающий способность семян поглощать воду и, следовательно, имитирующий механический эффект семенной оболочки, то их прорастание ингибируется. Однако осмотический эффект раствора маннита может быть преодолен, например, освещением или обработкой гибберелловой кислотой, которые стимулируют прорастание интактных семян. Отсюда следует, что семенная оболочка служит чисто механическим препятствием, для преодоления которого корень должен развить достаточный тургор. Однако справедливо ли это для многих видов, еще не ясно. Тем не менее, каким бы ни был эффект семенных оболочек, очевидно, что они играют важную роль во многих типах покоя семян.

11.4.7. Сходство между покоем семян и почек

Ингибирование прорастания не обязательно связано с наличием оболочек. У семян, для которых характерен покой зародыша, даже изолированный зародыш так и останется покоящимся. Следовательно, здесь мы должны искать какую-то другую причину покоя. В этом случае покой семян, чувствительных к свету и охлаждению, имеет ряд общих черт с покоем почек и других органов. Вкратце эти черты могут быть описаны следующим образом.

1. Охлаждение в течение нескольких недель при температуре 0—5°C эффективно в прерывании покоя почек, корневищ, клубнелуковиц и многих семян.

2. Определенные соединения прерывают покой некоторых органов; так, тиомочевина и гибберелловая кислота снимают покой у почек деревьев, клубней картофеля и некоторых семян.

3. Почки некоторых видов древесных растений можно индуцировать к распусканию, а семена определенных видов — к прорастанию, поместив их в условия длинного дня; в условиях короткого дня эффект не достигается.

Сходство между покоем почек и семян особенно заметно при сравнении почек и семян одного вида. Так, например, у березы (*Betula pubescens*) покой и почек и семян может быть снят охлаждением, воздействием длинного дня или обработкой гибберелловой кислотой. Такое сходство между покоем почек и семян почти не оставляет сомнения, что причины покоя в обоих случаях одинаковы.

Покой почек, по-видимому, не связан с тем, что почечные чешуи препятствуют газообмену, поскольку: 1) у многих покоящихся почек чешуи сомкнуты не плотно, 2) удаление почечных чешуй обычно не вызывает возобновления апикальной активности. Кроме того, нарушение газообмена не может иметь

большого значения в *индукции* покоя почек, поскольку, до того как почечные чешуи действительно сформируются, они, несомненно, не препятствуют поглощению кислорода. Вместе с тем мы видели, что у многих видов древесных растений зимующие почки образуются под влиянием короткого дня, и реакция определяется условиями длины дня, в которых находятся *листья*. В свете данных о роли гормонов в регуляции покоя почек уместно рассмотреть их возможное значение в некоторых типах покоя семян.

11.5. ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПОКОЯ

Поскольку гормоны оказывают существенное влияние на многие аспекты роста и дифференцировки, вполне естественно рассмотреть их возможную роль в регуляции покоя почек и семян. Изучение этой проблемы включает два основных подхода: 1) изучение влияния экзогенных гормонов и 2) изучение эндогенных гормонов, в частности выяснение вопроса о том, имеется ли сколько-нибудь значительная корреляция между колебаниями уровня эндогенных гормонов и состоянием покоя почек и семян.

Эксперименты с экзогенными гормонами показали, что покой у многих семян может быть прерван в результате воздействия гиббереллинами, цитокининами и этиленом. Реакция на гиббереллины проявляется у семян ряда видов, которым в естественных условиях свойственно созревание при сухом хранении и которые нуждаются в воздействии света или охлаждении. Среди различных изученных гиббереллинов ГА₄ и ГА₇ особенно активно стимулировали прорастание покоящихся семян. У небольшого числа видов покой может быть прерван обработкой цитокининами; обычно какой-либо конкретный вид реагирует или на гиббереллин, или на цитокинин, но семена некоторых видов проявляют реакцию на оба типа ростовых веществ, например семена салата, груши (*Pyrus communis*) и клена (*Acer saccharum*). Давно известно, что этилен также стимулирует прорастание семян ряда видов, а у некоторых видов, например салата, этилен увеличивает процент прорастания в большей степени, чем цитокинины или гиббереллины.

Хотя у многих нуждающихся в световом воздействии семян прорастание можно вызвать и в темноте при обработке экзогенными ростовыми веществами, все же не всегда эти вещества полностью снимают потребность в свете. Часто можно наблюдать, что красный свет и гиббереллины оказывают синергичный эффект в преодолении покоя, что наводит на мысль о неидентичности способа их действия. Например, на прорастание семян сорняка *Spergula arvensis* красный свет, этилен и двуокись углерода оказывают явно выраженный синергичный эффект.

фект. У семян салата обработка кинетином снижает, но не заменяет полностью потребность в освещении.

У многих древесных растений покой зимующих почек и других обладающих покоем органов может быть снят гормонами тех же основных трех типов, которые эффективны для покоящихся семян. В большинстве таких случаев экзогенные гормоны снимают потребность в охлаждении, а у почек бука и березы экзогенный гиббереллин снимает также потребность в длинном фотопериоде. Считалось, что ГА₃ эффективен в ускорении распускания почек у *Acer pseudoplatanus* только после удовлетворения потребности в охлаждении, однако имеются, по-видимому, вполне достоверные данные, когда обработка ГА₃ эффективно заменяла охлаждение, например, у неохлажденных семян лещины.

При изучении изменений уровней эндогенных фитогормонов в растительных экстрактах было выявлено, что в некоторых случаях уровни гиббереллинов и цитокининов снижались в процессе развития состояния покоя и увеличивались по мере выхода из этого состояния. Так, твердо установлено, что если в молодых развивающихся зародышах уровни эндогенных гибберел-

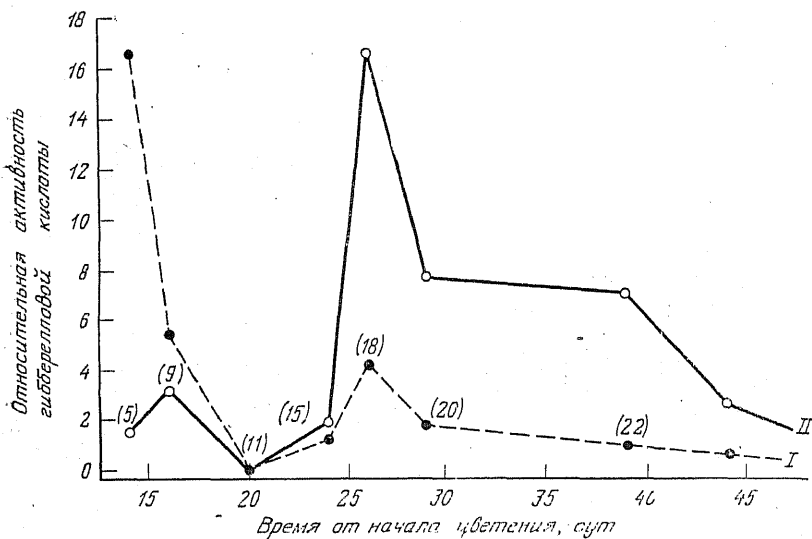


Рис. 11.7. Изменение активности эндогенного гиббереллина в семенах *Phaseolus vulgaris* в период их развития. (K. G. M. Skene, D. J. Carr, Austr. J. Biol. Sci., 14, 13—25, 1961.)

По оси ординат отложены значения относительной гиббереллиновой активности на 1 г сырого веса (I) и на 1 семя (II), по оси абсцисс — время от зацветания. Основной график соответствует количеству гибберелловой кислоты на 1 семя; одна единица этого графика эквивалентна 5 единицам гиббереллиновой активности на 1 г сырого веса.

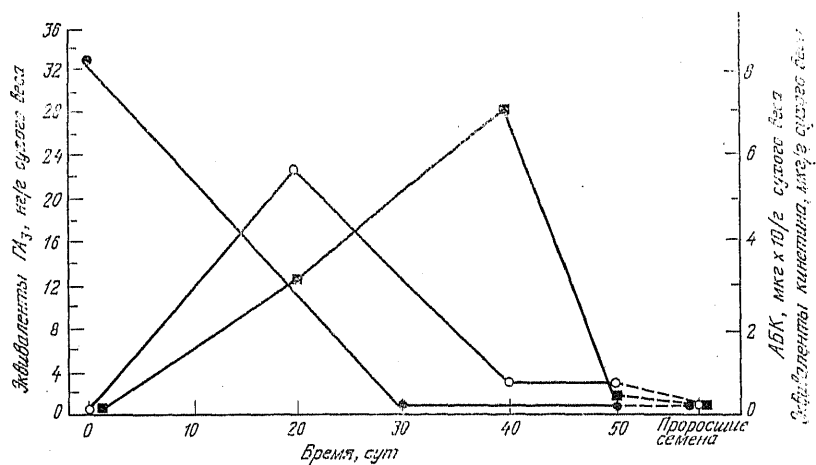


Рис. 11.8. Влияние охлаждения при 5 °C на уровни эндогенных цитокининов, гиббереллиноподобных соединений и абсцизовой кислоты в семенах *Acer saccharum*. (D. P. Webb, J. van Staden, P. F. Wareing, J. Exp. Bot., 24, 105—116, 1973.)

Квадраты — кислые цитокининоподобные соединения. Белые кружки — цитокининоподобные соединения. Черные кружки — эндогенная абсцизовая кислота.

линов и цитокининов чрезвычайно высоки, то на более поздних стадиях развития семени уровни этих гормонов быстро снижаются почти до нуля (рис. 11.7); правда, такие изменения не ограничиваются видами, имеющими покоящиеся семена. Наряду со снижением уровня свободных гиббереллинов, особенно глюкозидов гиббереллинов и эфиров сахаров, которые сохраняются в семени в качестве «резервов». Аналогичное снижение уровней эндогенных гиббереллина и цитокинина происходит в зимующих почках древесных растений во время покоя, как в естественных условиях, так и в результате реакции на короткий день в экспериментальных условиях.

В противоположность этому было обнаружено, что количества экстрагируемых из семян и почек гиббереллинов и цитокининов увеличиваются во время охлаждения. У некоторых видов уровни цитокининов и гиббереллинов в семенах, достигнув пика, сразу же снижаются, так что к концу периода охлаждения содержание этих гормонов возвращается к низкому уровню (рис. 11.8). У некоторых нуждающихся в свете семян после коротких периодов воздействия красным светом содержание гиббереллинов и цитокининов быстро увеличивается (рис. 11.9). Следовательно, как охлаждение, так и освещение красным све-

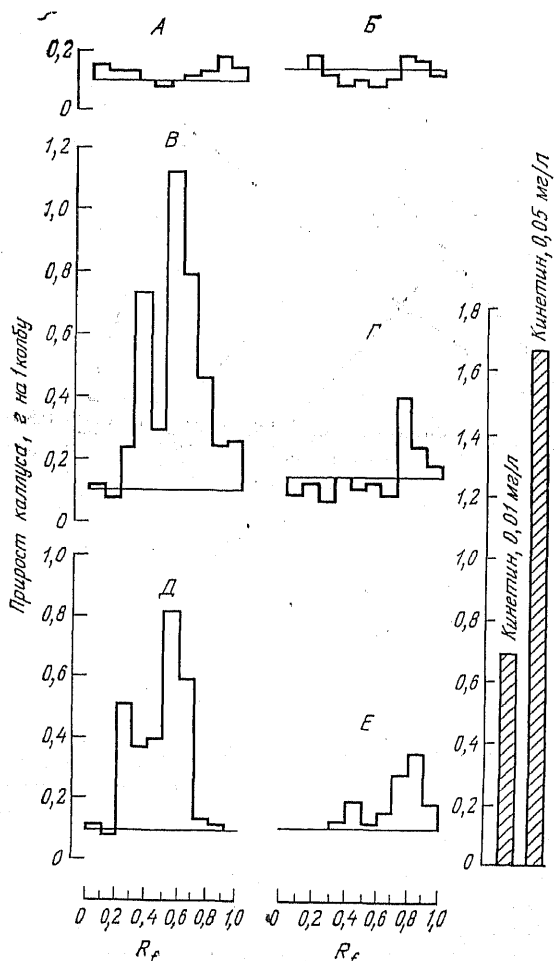


Рис. 11.9. Влияние кратковременного действия красного (К) и дальнего красного (ДК) света на уровни эндогенного цитокинина в семенах *Rumex obtusifolius*. (J. van Staden, P. F. Wareing, *Planta*, 104, 126—133, 1972.)

Все семена вначале поглощали воду в темноте в течение 2 сут, а затем были подвергнуты указанным воздействиям, после чего было проведено экстрагирование цитокининов. А. Необработанные (цитокинины экстрагировались сразу же). Б. 2 сут в темноте. В. Красный свет 10 мин. Г. Красный свет 10 мин с последующими двумя сутками в темноте. Д. Красный свет 10 мин + дальний красный 5 мин. Е. Красный свет 10 мин + дальний красный 20 мин. После хроматографии на бумаге экстракты семян были испытаны на активность цитокинина в биотесте с каллусом сои.

том, снимающие покой у семян различных видов, приводят к увеличению эндогенных гиббереллинов и/или цитокининов.

Известно, что этилен стимулирует прорастание семян ряда видов, а в настоящее время накапливается все больше и больше

данных о том, что эндогенный этилен играет важную роль в покое семян. Так, у разновидностей арахиса (*Arachis hypogea*), семена которых характеризуются отсутствием стадии покоя, осевые части зародыша синтезируют этилен во время прорастания, тогда как у разновидностей, семена которых входят в состояние покоя, этилен образуется только в небольших количествах. В покоящихся семенах *Xanthium* наблюдаются сложные взаимодействия между эффектами этилена, двуокиси углерода и кислорода во время прорастания. «Непокоящиеся» семена активно синтезируют эндогенный этилен в аэробных условиях, тогда как в покоящихся семенах этот синтез протекает с низкой скоростью, так что покой у семян *Xanthium* обусловлен подавлением биосинтеза этилена. Находящиеся в покое семена можно стимулировать к прорастанию тиомочевинной, цитокинином и бензиладенином, которые также увеличивают образование этилена, однако известно, что основной эффект этих веществ заключается в стимуляции роста и увеличение образования этилена является в большей степени *следствием* этого роста, а не его причиной.

Хотя такие общие корреляции между уровнями гормонов и состоянием покоя наводят на мысль, что влияние прерывающих покой воздействий может опосредоваться изменениями уровней эндогенных гормонов, необходимо получить твердые доказательства что это так, поскольку: 1) не известно, являются ли изменения уровней гормонов причиной или результатом изменений состояния покоя, 2) при более детальном изучении иногда обнаруживается недостаточная корреляция между уровнями экстрагируемых гормонов и состоянием покоя. Например, хотя уровень цитокининов в семенах щавеля (*Rumex obtusifolius*) после облучения их красным светом быстро увеличивается, имеются данные, что такое увеличение эндогенных цитокининов *не* является основной причиной выхода из состояния покоя. Кроме того, проводимые в прошлом определения уровней эндогенных гормонов выполнялись на относительно плохо очищенных экстрактах растений с использованием биотестов со всеми присущими этим методам ошибками.

Однако, хотя гиббереллины, цитокинины и этилен играют важную роль в регуляции покоя, можно с уверенностью сказать, что покой является не просто результатом отсутствия этих ускоряющих рост гормонов. Напротив, существуют обстоятельные данные, свидетельствующие об активном блокировании метаболизма в покоящихся тканях, что наводит на мысль о возможном включении ингибирующих рост веществ в механизм, обуславливающий поддержание покоя. Вещества, ингибирующие рост в различных тестах, могут быть экстрагированы из многих тканей растений, и, следовательно, возможно, что во время покоя эти вещества активно ингибируют рост. Впервые

такое предположение было высказано Хембергом. Он показал, что экстракты из находящихся в состоянии покоя клубней картофеля и почек ясеня (*Fraxinus excelsior*) содержат вещества, которые ингибируют рост coleoptилей овса, а обработка этиленхлоргидрином, снимающим покой у клубней картофеля, вызывает заметное снижение ингибирующей активности экстрактов тканей. Было также показано, что у ряда видов древесных растений на протяжении зимы наблюдается снижение ингибирующей активности экстрактов из зимующих почек и что такое изменение коррелирует с постепенным выходом почек из состояния покоя. Однако, ясно, что подобная корреляция не устанавливает причинной взаимосвязи между уровнями ингибиторов роста и покоем. С помощью биотестов редко можно установить различие между изменениями в количестве ингибирующих и ускоряющих рост компонентов, взаимосвязанных друг с другом. Кроме того, если определенные вещества, экстрагируемые из тканей растений, ингибируют рост coleoptилей, то из этого не обязательно следует, что естественная функция таких веществ выражается в ингибировании роста тканей, из которых они выделены. В самом деле, возможно, что некоторые из таких «ингибиторов», являющихся токсичными веществами, в дифференцированных клетках обычно содержатся в вакуолях и, следовательно, не попадают в растущие ткани растения.

Однако значительный интерес представило открытие абсцизовой кислоты (АБК), которая во многих тестах является сильным ингибитором роста. Поиск естественного индуцирующего покой вещества «дормина» привел к одновременному выделению АБК из листьев *Acer pseudoplatanus* и из плодов хлопчатника.

Обработка экзогенной АБК во многих тестах ингибирует рост и прорастание. Правда, для ингибирования не находящихся в покое семян необходимо постоянное действие АБК, и если семена промыть в воде, то они быстро прорастают. Вместе с тем АБК индуцирует образование зимующих почек («турионов») у многокоренника обыкновенного (*Spirodela polyrrhiza*), и экспериментально индуцированные зимующие почки, по-видимому, находятся в состоянии естественного покоя, который может быть снят охлаждением или обработкой цитокининами. Сходным образом находящиеся в покое незрелые зародыши тиса (*Taxus baccata*) можно прорастить, замочив их в питательной среде, что приведет к вымыванию эндогенной АБК из зародышей. Однако такие «отмытые» зародыши можно снова вернуть в состояние покоя, обработав их экзогенной АБК. Обработкой экзогенной АБК можно также индуцировать образование зимующих почек у сеянцев явора. Впрочем, для индукции покоя АБК необходимы относительно высокие ее концентрации в течение длительного периода, так что не ясно, имеет ли формирование зимующих почек в результате такой обработки какое-

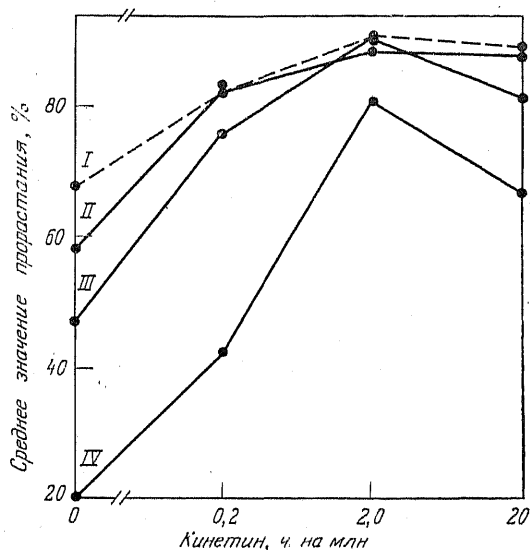


Рис. 11.10. Влияние абсцизовой кислоты и кинетина по отдельности и в комбинации на прорастание семян салата-латука. (P. F. Wareing, J. Good, H. Potter, J. A. Pearson, S. C. I. Monograph no 31, Soc. for Chem. Ind., London, 1968.) Концентрация АБК, выраженная в частях на миллион: I — 0; II — 0,02; III — 2,0; IV — 20.

либо отношение к естественному процессу. Кроме того, имеется и ряд неудачных попыток индуцировать образование почек при воздействии АБК.

В ряде тестов было обнаружено, что действие АБК прямо противоположно действию гиббереллинов и цитокининов. Например, ингибирующее действие АБК на прорастание семян салата можно полностью снять цитокининами, такими, как кинетин (рис. 11.10). Подобное взаимодействие между АБК и GA_3 обнаружено и в других тестах. Такие наблюдения привели к предположению, что покой может регулироваться взаимодействием между ингибиторами роста, такими, как АБК, и стимуляторами роста, такими, как GA_3 и цитокинины. У семян ряда видов действие АБК снимается цитокининами, но не снимается GA_3 . Исходя из этого, было выдвинуто предположение, что гиббереллины, АБК и цитокинины играют «основную», «предохранительную» и «разрешающую» роли в регуляции покоя семян, т. е. постулировалось, что гиббереллины играют основную роль в преодолении покоя семян, соответствующие концентрации АБК препятствуют прорастанию, а в условиях, приводящих к увеличению синтеза эндогенных цитокининов, этот эффект можно снять.

Хотя эксперименты с экзогенной АБК и свидетельствуют о ее возможной роли в регуляции покоя, определение уровней эн-

догенной АБК показало, что некоторые результаты согласуются с этой гипотезой, тогда как другие противоречат ей. Так, в семенах яблони и клена (*Acer saccharum*) уровни эндогенной АБК снижаются в процессе охлаждения семян, но эксперименты с другими семенами дают менее четкие результаты. Точно так же, по некоторым данным, уровни АБК в почках черной смородины (*Ribes nigrum*) и бука (*Fagus sylvatica*) снижаются в ходе зимы, что сопровождается сопутствующим увеличением уровня эфира глюкозы и абсцизовой кислоты; это позволяет предположить, что свободная АБК, по-видимому, переходит в связанную форму. Данные аналогичного исследования, проведенного на почках березы и явора, показали, что изменения уровней свободной АБК и соотношения «свободная/связанная АБК» в течение зимы выражены не столь четко.

Поскольку образование зимующих почек у древесных растений ускоряется в условиях короткого дня, можно ожидать, что если образование почек и покой обусловлены действием АБК, то уровни эндогенной АБК должны быть выше при коротком дне, чем при длинном, однако в листьях и апексах побегов березы, клена и других видов таких различий не обнаружено. И еще, если высокие уровни АБК вызывают прекращение роста и образование почек у древесных растений, то следует ожидать, что очень высокие уровни АБК, возникающие в результате стресса от засухи (с. 214), будут стимулировать образование зимующих почек, однако для сеянцев березы, находившихся долгое время в условиях водного стресса, это не являлось правилом, хотя у других видов засуха вызывала образование почек.

Таким образом, современное состояние знаний относительно роли гормонов в регуляции покоя не позволяет нам однозначно решить эту проблему, и, хотя вполне возможно, что эндогенные гиббереллины, цитокинины и АБК играют определенную роль в индукции и поддержании покоя почек и семян, точная их роль остается неопределенной.

Большое число работ было посвящено изучению влияния ростовых веществ на синтез РНК и белка в семенах, правда, полученные результаты оказались весьма различными и нередко противоречивыми. По некоторым данным, АБК ингибирует синтез РНК и ферментов, а GA_3 или кинетин снимают этот эффект в определенных системах. В зародышах груши АБК ингибирует активность РНК-полимеразы, но этот эффект снимается кинетином и GA_3 . Образование мРНК для α -амилазы в клетках алейронового слоя ячменя происходит в ответ на действие GA_3 (с. 149), но этот эффект ингибируется АБК. В других работах указывается, что GA_3 увеличивает доступность ДНК-матрицы для транскрипции в семенах лещины. Значение этих наблюдений в связи с гормональной регуляцией покоя и прорастания недостаточно ясно.

11.6. ДОЛГОВЕЧНОСТЬ СЕМЯН

Период, в течение которого семена сохраняют жизнеспособность, значительно варьирует у разных видов. Семена некоторых видов, если их держать на открытом воздухе при обычных условиях влажности и температуры, сохраняют жизнеспособность очень непродолжительное время. Так, семена ивы (*Salix*) остаются жизнеспособными в течение всего лишь нескольких дней, и их следует сеять вскоре после созревания. Семена тополя и вяза сохраняют жизнеспособность в течение нескольких недель, а дуба, бука и лещины — в течение нескольких месяцев, если хранятся в прохладных влажных условиях.

Однако у большинства видов семена остаются жизнеспособными в течение более продолжительных периодов, обычно, по крайней мере год, а часто и дольше. Для определения долговечности таких семян были проведены различные типы экспериментов. Различные исследователи проверили жизнеспособность очень старых семян из гербариев, а Бекерель обнаружил, что семена разных представителей Leguminosae, имеющие возраст от 100 до 200 лет, обладали вполне удовлетворительной всхожестью. Из других семейств, характеризующихся «долголетием» семян, можно отметить Euphorbiaceae, Malvaceae, Convolvulaceae, Solanaceae, Labiatae, Compositae.

В США был поставлен ряд долгосрочных экспериментов по определению долговечности семян. Один из таких экспериментов был поставлен в 1902 г. министерством сельского хозяйства США. Семена 107 видов растений помещали в стерильную почву в горшочки, которые затем закапывали в открытый грунт на разную глубину. Спустя 20 лет некоторые семена 51 вида все же были жизнеспособными, но семена большинства растений погибли. Через 39 лет семена 20 видов обладали низкой способностью к прорастанию и только 16 видов обладали высокой способностью к прорастанию.

Ряд полевых наблюдений также свидетельствует о том, что семена длительное время могут сохранять жизнеспособность, находясь в почве в естественных условиях. Хорошо известен, например, случай, когда жизнеспособные семена сорняков, характерных для пахотных земель, обнаруживали в почвах лесов, посаженных на территории ферм 20—46 лет назад. Такие семена, вероятно, лежали в почве в состоянии покоя. Известны и другие подобные примеры. Так, живые семена лотоса орехоносного (*Nelumbo nucifera*) были обнаружены на дне бывшего озера в Маньчжурии, которое осушили по крайней мере 120, а вероятнее всего, 200 лет назад. Семена гербарных экземпляров лотоса, хранившихся 237 лет, также прорастали. Семена *Nelumbo* имеют очень толстые оболочки, которые непроницаемы для воды, поэтому зародыш не может поглощать воду до тех

пор, пока оболочка не станет проницаемой. Сходным образом твердые семена Leguminosae будут храниться в почве, не поглощая воду, до тех пор пока в результате активности почвенных микроорганизмов оболочка не разрушится. Следовательно, такие семена могут находиться в почве длительное время в *не-набухшем* состоянии.

Однако многие другие типы семян сохраняются в почве длительное время, не имея непроницаемой оболочки, и, следовательно, должны выживать во влажных условиях. В связи с этим возникает вопрос, почему такие семена не прорастают в почве, где они находятся, по-видимому, в соответствующих для прорастания условиях влажности и температуры? Эта проблема не получила удовлетворительного объяснения, но предполагается, что высокие концентрации двуокиси углерода в почве поддерживают семена в состоянии покоя. Правда, исследования последних лет показали, что бо́льшая часть находящихся в почве семян сорняков нуждается в свете для прорастания. Интересно, что среди закопанных семян, у которых обнаружена потребность в освещении, есть несколько видов, семена которых в естественных условиях не характеризуются светочувствительностью. Таким образом, закапывание семян в некоторых случаях ведет к развитию потребности в свете. Если такие нуждающиеся в свете семена зарыты в почву, то они будут оставаться в покое до тех пор, пока почва не будет перепахана или какое-нибудь другое действие не приведет к выносу их на поверхность, после чего они быстро прорастут. К числу таких семян относятся семена *Digitalis purpurea*, виды *Juncus*, виды *Polygonum*, *Veronica persica*, *Spergula arvensis*, виды *Hieracium*.

Окончательная причина утраты жизнеспособности семян полностью еще не выяснена, но известно, что в проростках старых семян наблюдаются различные цитологические аномалии, такие, как разрывы хромосом, нарушение митотического веретена и т. д. Кроме того, как рибосомная, так и информационная РНК в сухих семенах, по-видимому, разрушаются с возрастом семени, хотя фракции этих РНК, выделенные из старых семян, все еще будут поддерживать синтез белка *in vitro* (т. е. в бесклеточных системах). Однако в старых, потерявших жизнеспособность (интактных) семенах синтез РНК значительно снижен, и синтез белка происходит на очень низком уровне.

11.7. ПРОРАСТАНИЕ

11.7.1. Условия прорастания

Поскольку ткани зрелых семян находятся в сильно обезвоженном состоянии, не удивительно, что снабжение водой часто является лимитирующим фактором, регулирующим их прора-

стание. Попадая во влажную среду, семена поглощают относительно большое количество воды, и это является начальным процессом, в котором принимают участие различные содержащиеся в семенах вещества, особенно белки и крахмал. Сила поглощения чрезвычайно велика, и некоторые семена могут поглощать значительные количества воды из относительно сухой почвы.

Вторым фактором, играющим важную роль в регуляции прорастания, служит температура. Минимальная температура, при которой может происходить прорастание, значительно варьирует у разных видов. У некоторых растений, например бука, семена прорастают при температуре лишь незначительно превышающей точку замерзания, тогда как семена тропических и субтропических растений требуют более высокой температуры. Хотя семена большинства видов прорастают при постоянной температуре, некоторым семенам для прорастания необходимы ежедневные ее колебания. Например, семена щавеля *Rumex obtusifolium* лучше всего прорастают при чередовании температур 15 и 30 °C. Чередующиеся температуры необходимы также для прорастания ослинника (*Oenothera biennis*), бухарника шерстистого (*Holcus lanatus*) и сельдерея (*Apium graveolens*). В естественных условиях такие требования, вероятно, удовлетворяются за счет обычного колебания между дневной и ночной температурами. О физиологической основе этого явления известно очень мало.

Хорошо известно, что для прорастания семян необходимы подходящие условия аэрации, но мы очень мало знаем о потребностях семян в кислороде. Ясно, однако, что потребность нитратного семени в кислороде зависит не только от метаболических потребностей зародыша, но также и от проницаемости семенной кожуры или других семенных оболочек. Как мы уже видели, у семян многих видов семенная оболочка играет важную роль в поддержании состояния покоя. Если содержащегося в воздухе кислорода вполне достаточно для нормального роста растений, то его явно недостаточно для прорастания семян многих видов, что, несомненно, обусловлено чисто физическим препятствием, которое создают семенные оболочки на пути проникновения кислорода.

Заметное различие между видами в способности их семян прорасти под водой, несомненно, связано с тем, что парциальное давление растворенного в воде кислорода значительно меньше, чем кислорода, содержащегося в воздухе. Семена других видов хорошо прорастают под водой; к таким видам относятся как водные, так и некоторые наземные растения, например рис.

11.7.2. Процесс прорастания

У не обладающих покоем семян активные метаболические процессы, очевидно, начинаются вскоре после их попадания в благоприятные для прорастания условия. Возникает вопрос, что является первой стадией общего сложного процесса, известного как прорастание? Обычно основным критерием мы, конечно, считаем появление корешка, т. е. для большинства практических целей начало роста служит первым признаком прорастания. Представляется вероятным, что начальное удлинение корешка в большей степени связано с растяжением клеток, чем с их делением, однако при росте корешка деление клеток начинается очень рано. Возможно, что началу роста корешка предшествует ряд подготовительных процессов, но о природе этих процессов известно очень мало.

В сухом состоянии в покоящихся семенах метаболизм должен, очевидно, протекать на очень низком уровне с учетом отсутствия воды, но и после насыщения водой метаболическая активность сразу же не развивается полностью даже в непокоящихся семенах.

Когда непокоящиеся семена попадают в благоприятные для прорастания условия, происходит быстрое увеличение интенсивности дыхания; у семян гороха такое изменение можно обнаружить через 2—4 ч после замачивания. После такого начального повышения интенсивность дыхания в семенах гороха в течение нескольких часов поддерживается на некотором постоянном уровне. Приблизительно ко времени прорыва семенной кожуры корешком происходит дальнейшее быстрое повышение интенсивности дыхания, что наводит на мысль о лимитировании кожей газообмена на начальных стадиях прорастания. Напротив, у ячменя и пшеницы в процессе прорастания происходит постепенное повышение интенсивности дыхания.

Динамика выделения углекислого газа (Q_{CO_2}), поглощения кислорода (Q_{O_2}) и дыхательного коэффициента (RQ) во время прорастания указывает на тип дыхания (аэробный или анаэробный) и на природу дыхательного субстрата, т. е. углеводов, жир или белок. На ранних стадиях прорастания гороха дыхание, по-видимому, преимущественно анаэробное, так как семенная кожура ограничивает поглощение кислорода, и в тканях накапливается этиловый спирт.

Гликолитические ферменты, содержащиеся в сухих семенах, становятся активными во время набухания. Вместе с тем, хотя в сухих семенах имеются сформированные заранее митохондрии, они не функционируют. Следовательно, цикл трикарбоновых кислот и терминальное окисление не активированы, и окислительное фосфорилирование не может происходить сразу же после поглощения воды. Однако по мере того как семена

продолжают поглощать воду, в митохондриях полностью разбиваются кристы, происходит увеличение поглощения кислорода, а ферменты трикарбонового цикла становятся активными; таким образом, цепочка транспорта электронов замыкается.

К числу самых ранних и наиболее поразительных событий, происходящих при поглощении семенами воды, можно отнести быстрое повышение уровня АТФ. Однако такое повышение уровня АТФ не может быть связано с окислительным фосфорилированием, и маловероятно, что гликолиз начинает протекать достаточно активно или с достаточной скоростью, чтобы этим можно было объяснить повышение концентрации АТФ. Полагают, что АТФ может образовываться в результате дефосфорилирования фосфопротеидов, но прямых данных, подтверждающих эту гипотезу, нет.

Имеются, правда, данные о том, что прорастание зависит от количества доступной энергии в клетке, которое связано с «энергетическим зарядом», рассчитываемым так:

$$\frac{[\text{АТФ}] + 1/2 [\text{АДФ}]}{[\text{АТФ}] + [\text{АДФ}] + [\text{АМФ}]}$$

Энергетический заряд прорастающего зародыша пшеницы увеличивается во время ранних стадий прорастания, и очень скоро быстрое образование АТФ может служить своего рода регуляторным механизмом.

Хотя цикл трикарбоновых кислот и терминальное окисление не функционируют на начальных стадиях прорастания, мы уже упоминали (с. 403), что пентозофосфатный путь может иметь важное значение в инициации прорастания покоящихся семян у зерновых и других растений. Возможная роль пентозофосфатного пути неясна, но он может поставлять промежуточные продукты, которые являются весьма важными строительными блоками для различных биосинтетических процессов.

Прорастание сопровождается повышением активности широкого ряда ферментов, изначально присутствующих в семени, и появлением новых ферментов. Некоторые ферменты, образовавшиеся во время развития семени и содержащиеся в сухих семенах, при поглощении воды мгновенно активизируются. Другая группа ферментов, находящихся в сухих семенах в неактивной форме, проявляет активность только в процессе прорастания; вероятно, такие ферменты активируются с помощью различных механизмов. Хорошим примером синтеза нового фермента во время прорастания служит синтез *de novo* α -амилазы в алейроновом слое ячменя, что ранее уже рассматривалось (с. 149).

Синтез белка, определяемый по включению аминокислот, таких, как ^{14}C -лейцин, в полипептиды происходит в течение короткого времени (варьирующего от нескольких минут до нескольких часов) после поглощения воды. Кроме того, в заро-

дыхах пшеницы происходит быстрое, в пределах 30 мин от начала поглощения, образование функциональных полисом. Синтез РНК у зародышей ржи также можно обнаружить в пределах 60 мин. Однако некоторые данные указывают на то, что ранний синтез белка не зависит от новообразованной РНК и что все основные фракции РНК, необходимые для синтеза белка, содержатся в сухих семенах. Так, рибосомы, выделенные из сухих семян, могут поддерживать синтез белка *in vitro* при наличии информационной РНК, АТФ и некоторых других цитоплазматических фракций, включающих аминокислоты, тРНК, различные ферменты и другие факторы, связанные с синтезом белка. Существуют весьма убедительные данные, что сухие семена содержат «запасенную» РНК; к числу таких данных относятся следующие наблюдения:

1. В некоторых семенах наблюдается синтез белка *in vivo*, даже если синтез РНК подавлен.
2. После поглощения воды в отсутствие синтеза РНК или когда последний подавлен, быстро формируются полисомы.
3. Фракция, экстрагируемая из сухих зародышей пшеницы, может поддерживать синтез белка *in vitro*.
4. Из сухих семян были выделены фракции РНК, богатые полиаденином (свойства мРНК; см. с. 457).
5. Синтез специфических ферментов *de novo* при ингибированном синтезе РНК был продемонстрирован для зародышей семян хлопчатника.

Эти данные показывают, что ранний синтез белка в различных семенах протекает при участии «долгоживущей» информационной РНК, которая была синтезирована во время развития семени и хранилась в сухом семени. Данные, полученные при изучении развивающихся зародышей хлопчатника, позволяют предположить, что мРНК для фермента протеазы содержится в них в течение последних 20 дней развития семени, хотя синтеза протеазы в этот период не происходит. Следовательно, в развивающемся зародыше ингибируется синтез некоторых мРНК, возможно, в результате присутствия абсцизовой кислоты.

На первых стадиях прорастания синтез белка, по-видимому, зависит от ранее сформированной мРНК, но несомненно, что задолго до этого зародыш становится зависимым от новообразованной РНК. Начальное разворачивание корешка в пределах семени обычно происходит в результате удлинения клеток. Стадия, на которой происходит синтез ДНК и митоз в корешке прорастающего семени, значительно варьирует у разных видов, но обычно этот процесс начинается позднее, чем синтез РНК и белка.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Bewley J. D., Black M., 1978. *Physiology and Biochemistry of Seeds*, vol. 1, Springer-Verlag, Berlin.
- Clutier M. E. (ed.), 1978. *Dormancy and Developmental Arrest*, Academic Press, New York.
- Khan A. (ed.), 1977. *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination*, North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- Mayer A. M., Poljakoff Mayber A., 1976. *The Germination of Seeds*, 2nd ed., Pergamon Press Ltd., Oxford.
- Villiers T. A., 1975. *Dormancy and the Survival of Plants*, Edward Arnold, London.

Специальная литература

- Ching T. H., 1972. Metabolism of germinating seeds. In: *Seed Biology*, vol. II, T. T. Kozlowski (ed.), Academic Press, New York and London.
- Heydecker E. (ed.), 1973. *Seed Ecology*, Butterworths, London.
- Kozlowski T., 1972. *Seed Biology*, vol. I—II, Academic Press, New York and London.
- Mayer A. M., Shain Y. (1974). Control of seed germination, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 25, 167.
- Roberts E. H. (ed.), 1972. *Viability of Seeds*, Chapman and Hall, London.
- Taylorson R. B., Hendricks S. B. (1977). Dormancy in seeds, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 28, 331.
- Wareing P. F., Saunders P. F. (1971). Hormones and dormancy, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 22, 261.

Глава 12

Старение и опадение органов

12.1. ВВЕДЕНИЕ

Как и все многолетние организмы, высшие растения не вечны и жизнь каждого индивидуума заканчивается смертью. Однако, прежде чем наступит смерть целого организма, происходит постепенное отмирание его отдельных органов и тканей. В результате активности апикальной меристемы верхняя часть побега остается в эмбриональном состоянии, тогда как старение и смерть охватывает более старые латеральные органы, в особенности листья, части цветков и плоды. У многих растений отмирание органов носит ярко выраженный сезонный характер, т. е. наблюдается регулярная ежегодная утрата части побеговой системы. Деревья ежегодно утрачивают главным образом уже упомянутые латеральные органы, тогда как у некоторых травянистых многолетников, например у щавеля (*Rumex*), крапивы (*Urtica*), орляка (*Pteridium aquilinum*), каждый год отмирает вся надземная часть растения. У однолетних видов после цветения и плодоношения отмирает все растение, за исключением семян. Итак, отмирание отдельных частей растения — особенность годичного цикла роста, которая более характерна для растений, чем для животных.

Отмиранию органа или целого растения всегда предшествует процесс *старения*, который можно рассматривать как конечную фазу развития, ведущую к разрушению клеток и гибели. Для удобства мы будем различать *старение органа* и *старение целого растения*. У большинства растений каждый лист имеет ограниченную продолжительность жизни, так что по мере роста побега в высоту более старые листья в его основании начинают стареть и постепенно отмирают (рис. 12.1). Подобный характер старения рассматривается как *постепенное старение*, которое следует отличать от *одновременного*, или *синхронного*, старения листьев у листопадных деревьев умеренной зоны, что хорошо заметно осенью. *Старение плодов* можно наблюдать в течение их созревания как у сочных, так и у несочных плодов. Созревание сочных плодов — сложный процесс, который в конечном итоге заканчивается старением и загниванием тканей.

Прежде чем рассматривать старение растений, необходимо установить различие между *монокарпическими* видами, которые цветут и плодоносят только один раз, а затем отмирают, и *поликarpическими* растениями, которые цветут и плодоносят не-

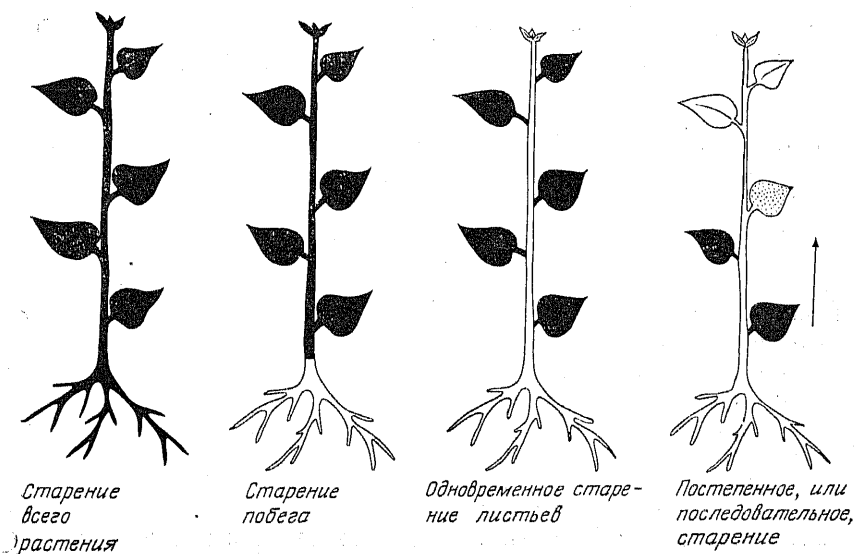


Рис. 12.1. Типы старения растений и листьев.

однократно. К монокарпическим относятся все однолетние и двулетние растения, а также небольшое число многолетников, которые вегетируют в течение ряда лет и затем неожиданно зацветают, плодоносят и отмирают. Примерами последнего типа растений могут служить столетник (*Agave*) и бамбук. Оба растения существуют в вегетативном состоянии в течение многих лет, прежде чем наступит единственная репродуктивная фаза. Таким образом, у монокарпических видов гибель всего растения тесно связана с репродукцией, и приуроченность гибели к этой стадии жизненного цикла предопределена генетически. В противоположность этому у поликарпических растений, которые включают как травянистые многолетники, так и древесные растения, смерть всего организма обычно не связана с репродукцией, и отдельные индивидуумы могут значительно отличаться друг от друга в отношении продолжительности жизни. Так, у двудольных древесных растений, относящихся без исключения к поликарпическим видам, каждое отдельное дерево обычно живет многие годы, и вид не может характеризоваться единой продолжительностью жизни. Действительно, если не учитывать случайности и болезни, казалось бы, нет причин, по которым дерево не могло бы жить неопределенно долго, хотя, несомненно, возникают проблемы механического характера, когда ветви становятся слишком тяжелыми, чтобы поддерживать

себя. У монокарпических растений смерть наступает в определенный момент жизненного цикла, и в отношении таких растений мы можем говорить о *запрограммированной смерти*.

Что определяет продолжительность жизни индивидуальной клетки, органа или всего растения? Можно было бы предположить, что данная клетка имеет строго ограниченную продолжительность жизни, которая определяется факторами, присущими самой клетке. Потеря жизнеспособности семян, по-видимому, связана с разрывом хромосом внутри отдельных клеток (с. 414), но из этого не следует, что изменения, происходящие в обезвоженных тканях семян при сухом хранении, имеют место также и в активно метаболизирующих клетках и являются причиной старения на более поздних стадиях жизненного цикла растения, хотя полагают, что хромосомные изменения играют важную роль в созревании и старении клеток животных.

В некоторых типах тканей в процессе дифференцировки происходит раннее отмирание определенных клеток, таких, как сосудистые элементы ксилемы, тогда как соседние клетки паренхимы могут оставаться живыми в течение многих лет. Изменения, происходящие в протопласте при дифференцировке сосудистого элемента, могут почти в точности соответствовать изменениям, которые позднее происходят в клетках стареющего органа, например листа. Однако процесс вакуолизации и увеличения размеров не обязательно включает дегенеративные изменения, поскольку клетки паренхимы могут жить в течение многих лет, например клетки сердцевины и сердцевинных лучей некоторых древесных растений. Таким образом, представляется вероятным, что у травянистых растений многие типы дифференцированных растительных клеток редко полностью используют потенциальные жизненные возможности, и старение и отмирание происходит не по причине действия факторов, присущих самим клеткам, а в силу условий, преобладающих внутри органа или организма в целом. Например, постепенное старение листьев вызывается по-видимому, конкуренцией между зрелыми листьями и растущими зонами побега, и если лист удалить и индуцировать у него образование корней на черешке, то он проживет гораздо дольше, чем в том случае, если он останется связанным с материнским растением (с. 429). Следовательно, скорость старения органов растения часто находится под контролем всего растения, а не просто определяется внутренне присущими свойствами клеток этого органа. Однако определенным органам, по-видимому, свойствен «прирожденный» процесс старения, который не регулируется целым растением; так, цветы и плоды стареют независимо от того, остаются ли они на материнском растении или нет.

В дополнение к внутренним факторам, которые регулируют процесс старения, ряд внешних факторов, в том числе засуха

ха, минеральное питание, интенсивность света и длина дня, а также болезни, влияют на скорость старения. Мы рассмотрим главным образом внутренние факторы, но при этом всегда необходимо помнить о значении факторов внешней среды.

12.2. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СТАРЕНИЯ

Если мы правы и старение у монокарпических растений действительно «генетически запрограммировано», то можно считать, что этот процесс возник в результате естественного отбора и что он дает некоторые биологические преимущества виду. Каковы же эти преимущества? Почему, например, преимуществом однолетних видов должно считаться старение всего побега в процессе развития и созревания плода, почему листья и другие части этого побега не могут оставаться зелеными, как это происходит при созревании плодов у многих поликарпических растений? Ответ на этот вопрос, возможно, связан с тем фактом, что в процессе созревания однолетних растений происходит значительное расщепление белков до аминокислот, которые транспортируются из листьев к развивающимся семенам и используются там для образования запасных материалов. Например, у растений овса большая часть азота стареющих листьев перемещается в плоды и накапливается в них. Таким образом, перемещение и повторное использование питательных веществ из стареющих органов выгодно для растения. Аналогичный экспорт запасных веществ происходит при одновременном старении листьев у деревьев осенью, только в этом случае все экспортируемые вещества откладываются в стволе. Существует, однако, и другое преимущество опадения листьев у листопадных деревьев, оно, вероятно, связано с уменьшением интенсивности транспирации, что весьма важно для выживания в таких климатических условиях, когда почва зимой промерзает (с. 386). В то же время при разложении листового материала в лесной подстилке в почву высвобождаются минеральные вещества, которые вновь становятся доступными для растения.

Постепенное старение базальных листьев побега не только высвобождает резервы азотистых соединений и других веществ для молодых растущих листьев, но также приводит к экономии углеводов и других продуктов фотосинтеза в том случае, если базальные листья сильно затенены и, следовательно, становятся «паразитами» для растения, поглощая продукты фотосинтеза из других частей и расходуя их лишь для дыхания. Таким образом, нетрудно видеть, что старение, как активный «запрограммированный» процесс, может иметь ряд преимуществ.

12.3. МЕХАНИЗМ СТАРЕНИЯ

Современные знания физиологии и биохимии старения основаны главным образом на изучении листьев (как связанных с растением и подвергающихся постепенному старению, так и отделенных от растения листьев и листовых дисков) и эфемерных цветков, таких, например, как у *Ipomoea tricolor*, венчик которого открывается и стареет в течение всего лишь 24 ч (рис. 12.10).

12.3.1. Постепенное старение листа

Первый хорошо заметный признак старения — пожелтение листа — обусловлен разрушением хлорофилла, в связи с чем другие пигменты листа, в особенности ксантофиллы и каротиноиды, становятся видимыми. Изучение ультраструктуры стареющих листьев показало, что происходит постепенная деградация мембранной структуры гран хлоропластов, сопровождающаяся появлением плотных шариков липидного материала (возможно, образующихся из разрушенных мембран), в которых растворены каротиноиды. Другие ранние изменения включают дегенерацию эндоплазматического ретикулума и постепенное исчезновение рибосом. Митохондрии сохраняют свою структуру на ранних стадиях старения, но позднее они также подвергаются дегенерации. В клетках полностью состарившихся листьев фасоли плазмалемма все еще остается интактной, но тонопласт исчезает и структура цитоплазмы и ядра совершенно утрачивается. Оставшиеся хлоропласты представлены пузырьками, содержащими капельки жира.

Такие структурные изменения в клетках стареющего листа сопровождаются изменениями в их составе и метаболической активности. В результате расщепления белков до аминокислот и амидов (рис. 12.2) содержание белка в листе прогрессивно уменьшается. Наблюдается также прогрессивное уменьшение содержания РНК, причем особенно рибосомной РНК (рис. 12.3).

Эти дегенеративные изменения отражаются на интенсивности фотосинтеза и дыхания листа. У периллы с момента полного развертывания листа интенсивность фотосинтеза сначала снижается постепенно, а на поздних стадиях старения происходит более резкое снижение интенсивности (рис. 12.4). У этого вида интенсивность фотосинтеза тесно связана с уровнем растворимой белковой фракции хлоропластов, известной как фракция 1, содержащей фермент рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилазу, который катализирует процесс фиксации двуокиси углерода. Интенсивность дыхания варьирует у разных видов, но у некоторых она остается довольно постоянной до последних стадий старения, после чего происходит резкое ее повышение, соответ-

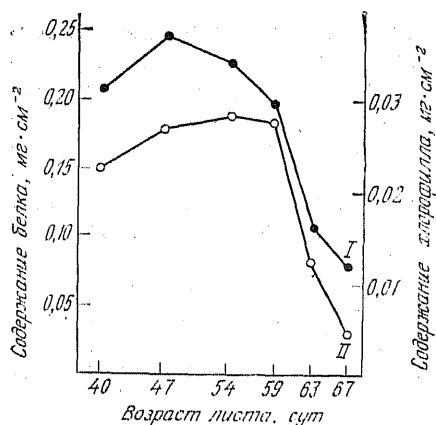


Рис. 12.2. Изменение содержания белка (I) и хлорофилла (II) в прикрепленных листьях *Perilla frutescens* с момента их полного разветвления до старения. (Из Н. W. Woolhouse, Symp. Soc. Exp. Biol., 21, 179, 1967.)

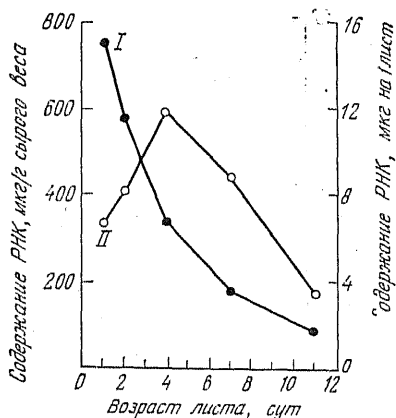


Рис. 12.3. Изменение содержания рибонуклеиновой кислоты (РНК) в прикрепленных листьях гороха (*Pisum sativum*) с момента их полного разветвления. (Из R. M. Smillie, G. Krotov, Can. J. Bot., 39, 891, 1961.)
I — количество РНК на 1 г сырого веса листовой ткани; II — содержание РНК в расчете на 1 лист.

ствующее «климактерическому» периоду, наблюдаемому во время созревания и старения плодов.

Возникает вопрос: чем вызываются и регулируются деграционные изменения, происходящие в процессе старения листа? Поскольку, по крайней мере у некоторых видов, интенсивность дыхания остается постоянной на ранних стадиях старения, полагают, что изменений в метаболизме дыхания, которые могли бы явиться причиной старения, не происходит. Вместе с тем мы видели, что старению постоянно сопутствует заметное уменьшение содержания белка и РНК в листьях. Этим изменениям и было уделено пристальное внимание как возможному индикатору «ключевых» процессов старения. Так, было показано, что определенная часть содержащегося в листе белка подвергается постоянному «круговороту», т. е. белок непрерывно синтезируется и разрушается, и поэтому общая скорость изменения его содержания представляет собой разницу скоростей этих двух процессов. В тех случаях, когда происходит такой непрерывный круговорот, содержание белка может отражать снижение скорости синтеза или повышение скорости распада или то и другое вместе.

Расщепление белка вызывается протеолитическими ферментами. Данные по изменению активности этих ферментов показали, что она не увеличивается во время старения листа, и, сле-

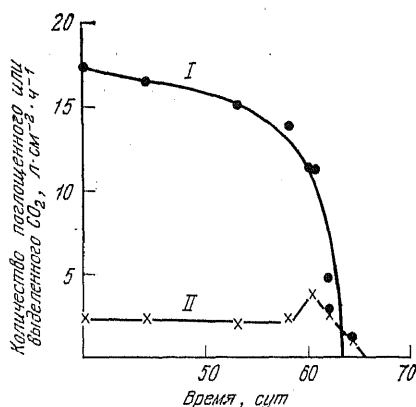


Рис. 12.4. Изменение интенсивности фотосинтеза (I) и дыхания (II) в прикрепленных листьях *Perilla frutescens* с момента полного разворачивания до старения. (Из той же работы, что и рис. 12.2.)

довательно, снижение содержания белка обусловлено главным образом уменьшением скорости его синтеза. Одно из вероятных предположений относительно этих данных заключается в том, что стареющий лист полностью сохраняет способность к синтезу белка, но скорость синтеза ограничивается отсутствием аминокислот в листе. В здоровом зеленом листе аминокислоты, высвободившиеся в результате расщепления белка, вновь используются в его синтезе. Однако, по мнению исследователей, в стареющем листе аминокислоты экспортируются в другие части растения настолько быстро, что «фонда» свободных аминокислот, доступных для синтеза белка не образуется, в результате чего и снижается его содержание (рис. 12.5). И действительно обнаружено, что заметного накопления свободных аминокислот в стареющих, связанных с растением листьях не происходит, что несомненно связано с непрерывным их экспортом. Правда, теперь возникает вопрос, почему запас аминокислот ограничен в стареющем листе и не является таковым в нормальном?

Имеются данные, что постепенное старение листьев наступает в результате конкуренции за метаболиты и питательные вещества между старыми листьями в основании побега и молодыми растущими листьями апикальной зоны. Такое заключение вытекает из того факта, что если растение декапитировано и пазушные побеги удалены, то старение оставшихся более старых листьев значительно затормаживается, а те листья, которые уже проявили признаки старения, т. е. начали желтеть, могут снова зеленеть. Верхушечный лист декапитированного растения также может усиленно расти, достигая аномальных размеров. Таким образом, постепенное старение является «коррелятивным явлением», проявляющим сходство с апикальным доминированием (с. 204). Постепенное старение более ярко проявляется в условиях дефицита минерального питания; например, у растений, выращиваемых в слишком маленьких горшочках, часто стареют базальные листья, иными словами, в этих условиях, по-видимому, наблюдается серьезная конкуренция за доступные питательные вещества, и в этой конкуренции моло-

дые листья имеют явное преимущество. Однако процессы старения этих базальных листьев можно приостановить или даже ревертировать, применив азотные удобрения, такие, как аммиачный нитрат.

Итак, вполне возможно, что конкуренция между молодыми и старыми листьями приводит к увеличению скорости транспорта аминокислот от старых к растущим листьям и, следовательно,

к уменьшению фонда метаболитов, доступных для синтеза белка в старых листьях. Весьма важным в этой гипотезе является положение о необходимости активного круговорота белка, но в полностью развернувшихся листьях периллы скорость круговорота «фракции 1» белка равна нулю, т. е. не наблюдается постоянного синтеза и распада, а в процессе старения фракция 1 снижается намного быстрее, чем вторая фракция («фракция 2»), в которой происходит активный круговорот.

Другой постулат рассматриваемой гипотезы — это то, что способность к синтезу белка остается относительно неизменной во время старения листа. Удобным методом измерения скорости синтеза белка является определение скорости включения радиоактивных аминокислот, таких, как ^{14}C -лейцин, в белок. Аналогичным образом можно определить скорость синтеза РНК по скорости включения предшественника РНК, такого, как ^{14}C -аденин. Данные, полученные с помощью этих методов, показали, что способность листьев табака включать ^{14}C -лейцин и ^{14}C -аденин в процессе старения снижается, хотя довольно желтые листья сохраняют некоторую способность синтезировать определенные ферменты, такие, как пероксидазу и рибонуклеазу (вызывающие расщепление РНК). Однако это свидетельствует о том, что снижение способности к синтезу белка в большей степени является результатом, чем причиной старения. Тем не менее представляется очевидным, что метаболизм белка в стареющих, связанных с растением листьях может рассматриваться как несбалансированная реакция круговорота, где процессы катаболизма преобладают над процессами анаболизма.

Таким образом, некоторые данные подтверждают гипотезу о том, что уменьшение содержания белка в прикрепленных стареющих листьях связано в основном с ограниченным содержанием аминокислот, а не с понижением способности к синтезу белка, но эти данные не бесспорны. Кроме того, известно, что, когда у растения удаляют молодые листья, оставшиеся более

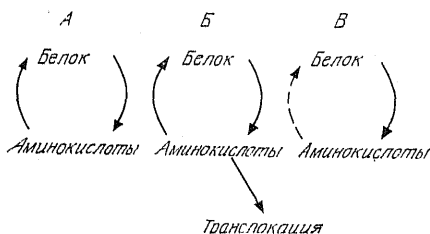


Рис. 12.5. Схема, иллюстрирующая круговорот белка в листьях (А), гипотезу транслокации белка (Б) и гипотезу нарушения синтеза белка (В). (E. W. Simon, Symp. Soc. Exp. Biol., 21, 215, 1967.)

старые листья зеленеют и в них заметно и быстро повышается синтез РНК, что предшествует повышению уровня белка в листе. В пределах 12 ч после удаления молодых листьев у растений периллы в старых листьях стимулируется включение $^{32}\text{PO}_4$ в хлоропластную рибосомную РНК, и эти изменения происходят прежде, чем эффект оказывается видимым в цитоплазматических рибосомах листа. Подобные результаты наводят на мысль, что в самом начале старения происходят изменения в метаболизме нуклеиновых кислот в хлоропластах.

Теперь мы рассмотрим другой подход к проблеме старения листа. Этот подход состоит в том, что исследования проводятся на листьях или частях листьев, изолированных от материнского растения. Отделение листа обычно приводит к немедленному началу процессов старения его тканей, поэтому отделенные от растения листья или листовые диски являются удобным материалом для экспериментов в контролируемых условиях, не усложненных коррелятивным влиянием других частей растения.

12.3.2. Старение отделенных листьев

До сих пор мы рассматривали естественное старение листьев, связанных с материнским растением, но давно известно, что когда зеленый лист отделен от растения, он быстро разрушается и проявляет признаки прогрессирующего старения.

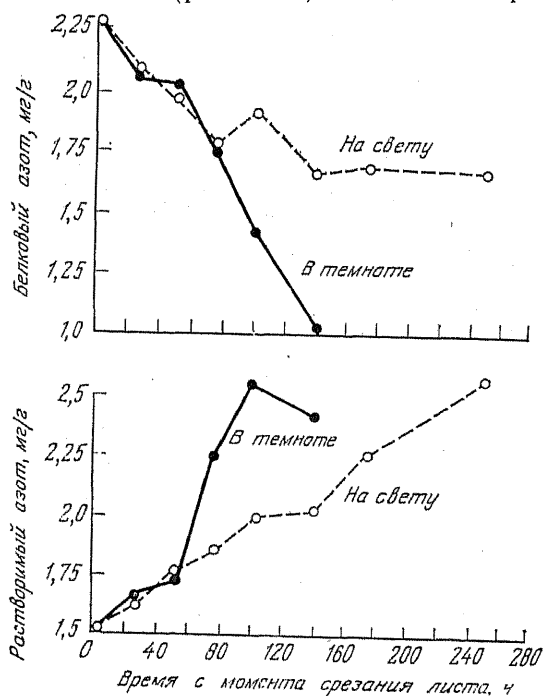
Как и у прикрепленных листьев, видимые признаки старения у отделенных листьев сопровождаются уменьшением содержания белка и РНК в листе. Распад белка начинается вскоре после того, как лист отделен от растения; например, уже через 6 ч после удаления в листе ячменя можно обнаружить распад белка. Вначале разрушение белка происходит с одинаковой скоростью независимо от того, находятся ли листья на свету или в темноте, но в дальнейшем скорость распада на свету уменьшается, а в темноте остается на высоком уровне (рис. 12.6). Первоначальное равенство скоростей распада на свету и в темноте наводит на мысль, что начало старения обусловлено не дефицитом углеводов, хотя этот фактор может иметь важное значение на более поздних стадиях старения (при протекании процесса в темноте).

В отделенных листьях распад белка ведет к накоплению в листе аминокислот и амидов, поскольку они не могут экспортироваться, как это происходит в случае прикрепленных листьев; правда, накопление происходит в основании черешка, где эти продукты и обнаруживаются. Таким образом, отделенные листья или листовые диски стареют, даже несмотря на высокий уровень аминокислот в тканях. Следовательно, при этих условиях уменьшение синтеза белка не может быть приписано от-

сутствию аминокислот. Тем не менее у отделенных листьев наблюдается пониженная способность к синтезу белка, о чем можно судить по снижению скорости включения ^{14}C -лейцина в состав белка. Листовые диски, содержащиеся в темноте в течение нескольких дней, утрачивают эту способность полностью. Таким образом, не вызывает сомнения, что снижение содержания белка в отделенных листьях происходит в результате понижения способности к его синтезу.

Было обнаружено, что разрушение белка, протекающее в отделенных листьях с большой скоростью, приостанавливается, если у них индуцировать образование корней (рис. 12.7). Действительно, листья, высаженные в почву и индуцированные к образованию корней на черешке, живут значительно дольше. Исходя из этого, Чибнелл предположил, что корни могут поставлять какой-то «фактор», который необходим для поддержания синтеза белка в листьях, но природа этого «корневого фактора» осталась неизвестной. Однако впоследствии было обнаружено, что кинетин в виде водного раствора препятствует старению отделенных листьев. Так, если каплю раствора кинетина капнуть на стареющий лист табака, то место, на которое попал кинетин, остается зеленым, хотя окружающие ткани листа будут продолжать желтеть (рис. 12.8). Сходным обра-

Рис. 12.6. Изменение в содержании белкового и растворимого азота в отделенных листьях табака. После срезания листа количество белкового азота уменьшается, а количество растворимого азота увеличивается. У листьев, содержащихся в темноте, такие изменения более выражены, и листья желтеют и стареют приблизительно через 100 часов (H. B. Vickery et al., Connecticut Agric. Exp. Sta. (New Haven) Bull., 374, 557, 1935.)



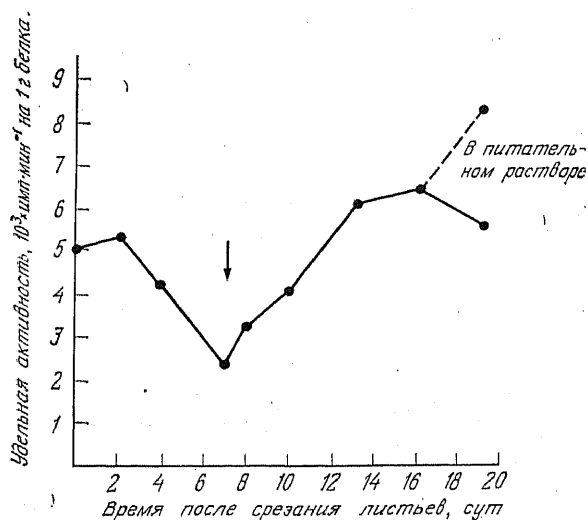


Рис. 12.7. Изменение способности к синтезу белка (измеряемому по включению ^{36}S -метионина в белок) в листьях *Nicotiana rustica*. (По von B. Parthier, Flora, Jena, 154, 230, 1964.)

Обратите внимание на то, что вначале способность к синтезу белка снижается, а после появления корней на черешке — увеличивается (помечено стрелкой).

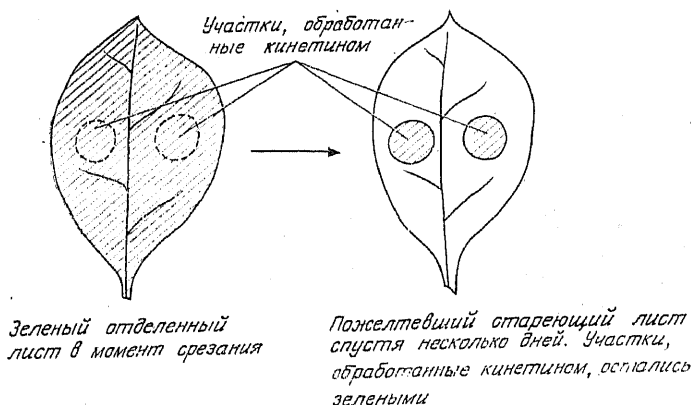


Рис. 12.8. Эффект действия кинетина на старение листа.

зом, если листовые диски редьки или дурнишника поместить в раствор кинетина, они сохраняют зеленый цвет, хотя контрольные диски в воде полностью состарятся. Кроме того, электронно-микроскопические исследования показали, что обработанные кинетином диски сохраняют нормальную структуру зеленого листа.

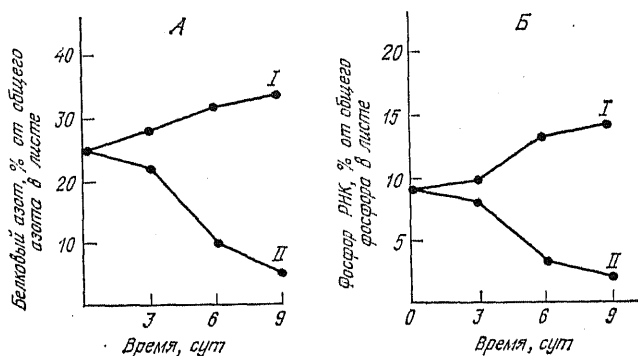


Рис. 12.9. Изменение содержания белка (А) и РНК (Б) в обработанных кинетином (I) и водой (II) половинках отделенных листьев *Nicotiana rustica*. (По R. Wollgiehn, Flora, Jena, 151, 411, 1961.)

Таким образом, старение отделенных листьев может предотвращаться либо 1) индуцированием образования корней, либо 2) обработкой кинетином или другими синтетическими цитокининами. Следовательно, вполне естественно предположить, что «корневой фактор», задерживающий старение, представляет собой эндогенный цитокинин. В связи с этим большой интерес возбудило обнаружение цитокининов в вытяжках из корней подсолнечника, винограда и других растений; это открытие навело на мысль, что листья для поддержания нормального состояния могут зависеть от притока эндогенных цитокининов из корней. Впоследствии мы еще вернемся к этому вопросу (с. 437).

Цитокинины не только задерживают старение отделенных листьев, но они также вызывают быстрое увеличение скорости синтеза РНК и белка всего лишь через несколько часов после их применения (рис. 12.9); включение предшественников, таких, как ^{14}C -аденин или ^{14}C -цитидин, во все фракции РНК увеличивается под действием кинетина. Поскольку в процесс синтеза белка вовлечен также синтез РНК в клетке, влияние цитокининов на синтез белка становится хорошо понятным, если учесть, что их первичный эффект — действие на синтез РНК, но, кроме того, они могут задерживать старение и путем воздействия на мобилизацию метаболитов (с. 435). Возможный способ стимулирующего действия цитокининов на синтез РНК обсуждался ранее (с. 146).

У многих видов гиббереллины не оказывают влияния на скорость старения листовых дисков, но у *Taraxacum*, *Rumex*, *Tropaeolum* и небольшого числа других травянистых растений гиббереллины более эффективны в задержке старения, чем цитокинины. Вместе с тем было обнаружено, что ауксины, относительно неэффективные в задержке старения листьев травя-

нистых растений, активны в этом отношении для листьев некоторых листопадных древесных (например, вишни) и тканей перикарпа карликовой разновидности фасоли (*Phaseolus vulgaris*). Применение гиббереллинов также может задерживать начало старения листьев у некоторых листопадных деревьев.

В противоположность эффекту задержки старения, оказываемому цитокининами, гиббереллинами и ауксинами, абсцизовая кислота (АБК) и этилен ускоряют процессы старения в листьях. Обработка неотделенных или отделенных листьев и листовых дисков этиленом (в виде газа) или АБК обычно ускоряет их пожелтение. Старение (созревание) плодов также ускоряется при воздействии этилена, и точно установлено, что он играет важную роль в естественном созревании сочных плодов. Как АБК, так и этилен ингибируют синтез РНК и белка в изолированных листовых дисках у многих видов, а это подчеркивает, что их влияние на процессы старения противоположно влиянию цитокининов и гиббереллинов.

12.3.3. Старение цветков

Быстрое завядание цветков общеизвестно и обычно является следствием старения венчика. В последние годы изучение биохимических и физиологических основ старения проводится в основном на некоторых короткоживущих, или эфемерных, цветках, например на цветках *Ipomoea tricolor* (рис. 12.10). Было обнаружено, что старение этих цветков, как и старение листьев, сопровождается быстрым снижением уровня белка, РНК и ДНК (рис. 12.11). Воздействие на только что распустившиеся цветки этиленом в течение 90 мин приводит к увяданию лепестков и другим изменениям, связанным со старением. В то же время было обнаружено, что по мере естественного увядания и повышения уровня РНКазы образование эндогенного этилена возрастает.

Временные параметры снижения уровня белка, РНК и ДНК можно сравнить с таковыми для уровней и активности гидролитических ферментов, таких, как протеиназа, РНКазы и ДНКазы (рис. 12.11); можно видеть, что по мере распада нуклеиновых кислот активность нуклеазы заметно возрастает, тогда как уровень протеиназы практически не изменяется в процессе старения. Ясно, что снижение уровня белка, которое происходит во время старения, вызывается не изменениями общей активности протеиназы, содержащейся в клетках, а каким-то иным процессом, который позволяет протеиназе действовать на клеточные белки. Стареющие клетки венчика, подобно стареющим клеткам листьев, сохраняют способность к синтезу определенных белков (например, РНКазы, активность которой возрастает при старении, как известно, синтезируется *de novo*), и общее снижение

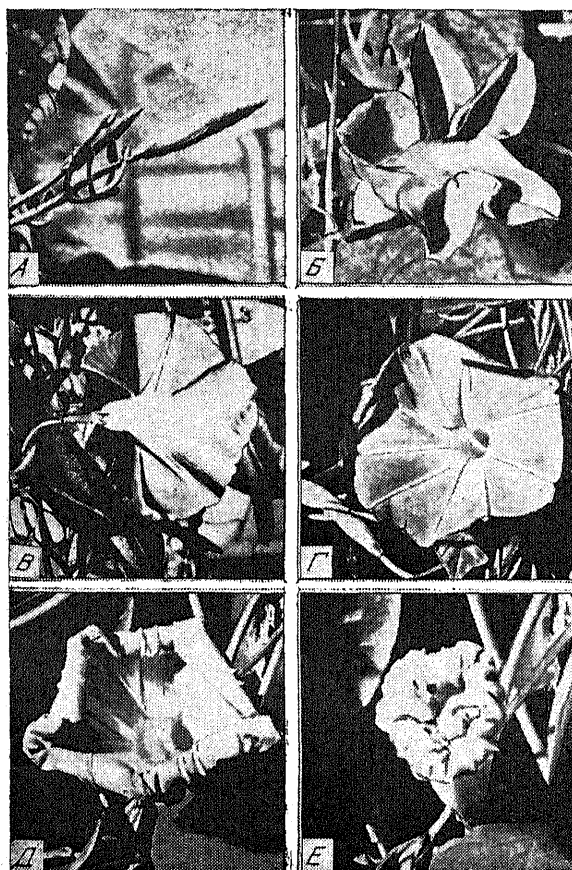


Рис. 12.10. Развитие эфемерного венчика *Ipomoea tricolor*. (Оригинальные отпечатки любезно предоставлены проф., д-ром Ph. Matile. Ph. Matile, The Lytic Compartment of Plant Cells, Wien and New York, 1975.)

А. Зрелый бутон ранним утром в день цветения. Б. Зацветание, 6 ч утра. В. Благодаря твердым жилкам венчик имеет форму воронки. Г. Первые признаки завядания, начало второй половины дня. Д. Частичное скручивание воронки, 5 ч вечера. Е. Венчик утром следующего дня.

количества белка, следовательно, отражает несбалансированность белкового круговорота, о чем говорилось ранее (с. 427), т. е. преобладанием процессов катаболизма над процессами анаболизма.

Накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что многие гидролитические ферменты, содержащиеся в растительных и животных клетках, пространственно изолированы. Они сосредоточены в особых участках и отделены от

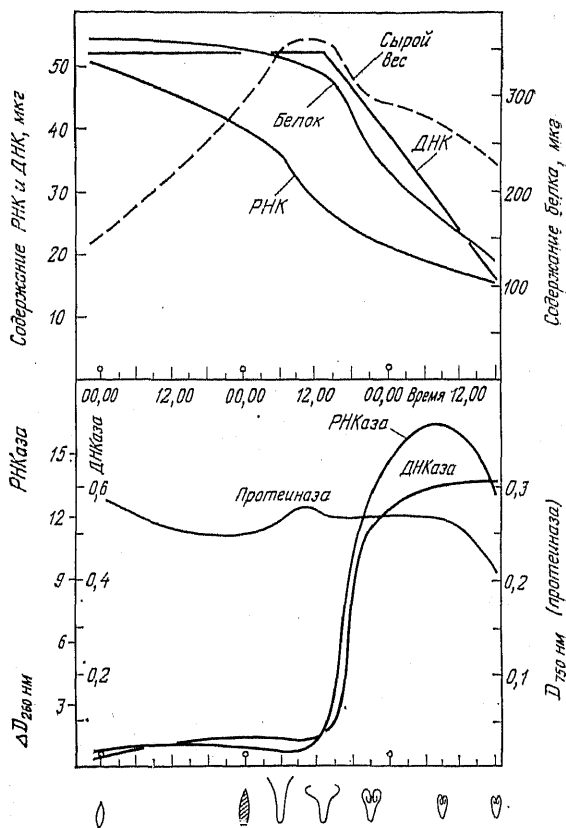


Рис. 12.11. Старение эфемерных цветков *Ipomoea tricolor*. (Оригинальный рисунок любезно предоставлен проф., д-ром Ph. Matile. Ph. Matile The Lytic Compartment of Plant Cells, Springer-Verlag, Wien and New York, 1975.) Вверху. Содержание белка и нуклеиновых кислот. Внизу. Относительные активности протеиназы и нуклеаз в венчике. Под шкалой времени схематически изображено изменение формы венчика. (См. также рис. 12.10).

остальных клеточных компонентов. Это предотвращает *автолиз* (неконтролируемое самопереваривание) в клетках. Области, или компартменты, содержащие эти гидролазы, объединяют под общим названием *литический* компартмент, который включает такие органеллы, как *лизосомы*. Пока литический компартмент остается интактным, распад клеточных компонентов находится под контролем и называется *автофагией*. Явление автофагии, по-видимому, состоит в переносе молекул субстрата через литические мембраны для контакта с гидролазами, с последующим выносом продуктов гидролиза из литического компартмента. Поскольку в стареющих тканях протекают метаболические про-

цессы, в частности синтез белка, литический компартмент, по-видимому, остается интактным во время большинства процессов старения. Заключительным этапом старения тем не менее оказывается автолиз, включающий разрыв мембран литического компартмента.

12.3.4. Старение всего растения

Как мы видели, у монокарпических видов, таких, как пшеница (*Triticum*), соя (*Glycine max*) и фасоль (*Phaseolus vulgaris*), старение всего растения обычно связано с развитием плодов. Так, у фасоли пожелтение листьев происходит сразу же, как только бобы и семена достигнут присущего им размера. Полностью развитые плоды желтеют и, в конечном итоге созрев, теряют воду. В то же время листья и стебли все более стареют и в положенное время отмирают. Старение растения и развитие плодов не только тесно связано во времени, но между этими двумя процессами, по-видимому, существует причинная взаимосвязь. На это указывает тот факт, что удаление цветков и молодых плодов у фасоли значительно задерживает старение остального организма. Кроме того, тот же эффект наблюдается, если вместо плодов из бобов удаляются только семена. Таким образом, присутствие развивающихся семян, по-видимому, регулирует старение растения, что наводит на мысль о поступлении из развивающихся семян какого-то «сигнала», который регулирует старение в других частях растения.

Далее, по мере развития семян фасоли происходит постоянное увеличение их сухого веса и содержания в них запасных питательных веществ, которые накапливаются в развивающихся семядолях. В то же самое время в листьях, как известно, происходит распад белков и углеводов, а аминокислоты, сахара и другие метаболиты транспортируются к развивающимся плодам. Подобные эффекты наблюдаются и у других видов. Исходя из этого, Молиш высказал предположение, что развивающиеся семена вызывают старение других частей растения, мобилизуя и накапливая не только углеводы, но также и другие вещества, поступающие из листьев.

Накопление запасных материалов в плодах, клубнях и других запасающих органах хорошо известно. Также известно, что активно растущие меристематические зоны, например молодые листья, способны мобилизовать питательные вещества из других частей растения. Такие центры мобилизации часто называются «воронками» для питательных веществ. Способ, с помощью которого осуществляется эта мобилизация, еще не понятен, поскольку все еще не ясен сам механизм флоэмного транспорта. Однако в последние годы появляется все больше и больше данных, указывающих, что фитогормоны могут играть важную

роль в мобилизационных эффектах. Так, например, когда кинетином воздействуют на небольшой участок стареющего листа табака, обнаруживается, что радиоактивные аминокислоты, которыми были обработаны другие части листа, накапливаются в участке, обработанном кинетином. Таким образом, метаболиты как бы «привлекаются» к местам, обработанным кинетином. Возможно, что это влияние кинетина на мобилизацию метаболитов является вторичным, возникающим в результате стимуляции синтеза белка в месте аппликации кинетина, так что образуется метаболическая «воронка», которая в свою очередь вызывает движение метаболитов к этой точке. Однако Мотесу удалось показать, что если воздействовать на часть листа в стороне от места аппликации кинетина аминокислотой (которая, естественно, в природе не существует и не включается в белки), то она накапливается в этой последней зоне, подобно естественной аминокислоте. Следовательно, учитывая это обстоятельство, можно думать, что действие кинетина на движение метаболитов не зависит от его действия на синтез белка.

Имеются данные, свидетельствующие о том, что направленный транспорт ауксина также может играть важную роль в движении метаболитов в созревающих растениях фасоли. Мы уже видели (с. 0135), что метаболиты имеют тенденцию накапливаться в зонах высокого содержания ауксинов. Известно также, что развивающиеся семена фасоли являются богатыми источниками ауксина. Таким образом, возможно, что движение запасных материалов от листьев к развивающимся семенам может служить примером транспорта, регулируемого ауксином. Данные в пользу этой гипотезы были получены в следующем эксперименте. У молодых растений фасоли удаляли плоды, а «обезглавленные» плодоножки оставляли на растениях. Концы плодоножек у части растений были обработаны индолилуксусной кислотой (ИУК) на ланолине, а у других растений (контрольных) — чистым ланолином. Выяснилось, что когда в основание стеблей подавался радиоактивный фосфор (^{32}P) в форме ортофосфата, он очень быстро передвигался в плодоножки, обработанные ИУК, но очень слабо двигался в плодоножки, обработанные чистым ланолином.

Гипотеза старения растений, основанная на мобилизации питательных веществ развивающимися семенами, по-видимому, вполне согласуется со многими наблюдениями, и если мы постулируем, что запас аминокислот в листьях уменьшается в результате их оттока в семена, то получаем, в сущности, ту же самую гипотезу, которая была предложена выше для объяснения постепенного старения листьев. Однако некоторые наблюдения трудно увязать с этой гипотезой. Так, было обнаружено, что у шпината (*Spinacia oleracea*), который является дву-

домным видом (с отдельно мужскими и женскими особями), старение *мужских растений* так же, как и женских, наступает после цветения, хотя, конечно же, мужские особи не несут никаких развивающихся плодов; более того, удаление мужских цветков задерживает старение листьев. Далее, в экспериментах с *Xanthium pensylvanicum* было обнаружено, что если у растений удалить все почки до помещения их в условия короткого дня, что препятствует образованию цветков, то листья этих растений стареют позднее, чем листья тех растений, которые формировали цветки и плоды. На основании этих и других наблюдений гипотеза, объясняющая старение растений только лишь с точки зрения мобилизации питательных веществ развивающимися семенами, отрицается многими исследователями.

Поскольку синтез белка регулируется аппаратом РНК клетки, вполне возможно, что присутствие развивающихся семян вызывает разрушение белка в листьях через воздействие на метаболизм РНК. Например, некоторые фракции РНК подвергаются быстрому круговороту, и возможно, что определенные предшественники РНК экспортируются из листьев к развивающимся семенам, вследствие чего они и оказываются недоступными для повторного включения в РНК листьев. Было предложено другое объяснение. Мы видели, что в листьях, когда они отделены от растения, происходит быстрое разрушение белка и РНК, на основании чего было высказано предположение о зависимости нормального метаболизма РНК от непрерывной поставки цитокининов из корней. Далее обнаружено, что семена богаты цитокининами. Однако, не известно, синтезируется ли весь содержащийся в семенах цитокинин в них самих, или цитокинины мобилизуются туда из других частей растения. Если верно последнее предположение, то возможно, что образующиеся в корнях цитокинины в присутствии развивающихся семян направляются не в листья, в результате чего нормальное функционирование аппарата синтеза РНК в листе становится невозможным; это приводит к снижению скорости синтеза белка, что наблюдается и в отделенном листе. Правда, один факт противоречит этой последней гипотезе. Заключается он в том, что старение прикрепленных листьев в норме не приостанавливается после обработки кинетином, и это наводит на мысль, что они не испытывают недостатка в кинетине, и, следовательно, их старение связано с какой-то другой причиной. Вполне возможно, что причины старения отделенного листа отличаются от причин старения прикрепленного листа, у которого происходит постепенное старение или старение в ответ на плодоношение.

Понятно, что хотя для решения проблемы старения был использован ряд интересных подходов, еще слишком рано говорить о единственной общей гипотезе, которая учитывала бы все факты. Однако можно считать, что старение начинается с нару-

шения баланса в относительных уровнях фитогормонов, и такие изменения могут возникать как под действием внешнего стимула (такого, как короткие дни), так и под действием внутренних факторов, таких, как конкуренция между пространственно разделенными органами растения. Приведенные в действие процессы старения включают автофагию и в конечном итоге автолиз.

12.4. СИНХРОННОЕ СТАРЕНИЕ ЛИСТЬЕВ

Синхронное старение листьев, наблюдаемое у листопадных древесных растений осенью, столь впечатляюще, что с ним связано само название этого сезона года «fall» (падать, падение) по крайней мере в Америке. Этот тип старения листьев отличается от постепенного старения в двух отношениях. Во-первых, он в большей степени регулируется факторами внешней среды, чем «внутренними» факторами, такими, как конкуренция между молодыми и старыми листьями. Во-вторых, он, по-видимому, обусловлен действием различных гормональных факторов.

Начало старения у листопадных древесных растений, вероятно, определяется двумя факторами внешней среды: длиной дня и температурой. Давно известно, что короткие дни ускоряют старение листьев у таких древесных растений, как тюльпанное дерево (*Liriodendron tulipifera*) и айлант (*Ailanthus altissima*). Кроме того, часто можно встретить сообщения о задержке опадения листьев у деревьев, растущих вблизи уличных фонарей, так как эти растения подвергаются воздействию искусственного длинного дня, когда естественная длина сокращается. Однако если сеянцы древесных растений оказываются в состоянии покоя в результате помещения их в условия короткого дня в теплой оранжерее, то многие виды сохраняют свои листья в зеленом здоровом состоянии, по крайней мере в течение нескольких недель. Таким образом, вполне вероятно, что естественное опадение листьев определяется короткими днями в сочетании с низкими осенними температурами, но точные экспериментальные данные по этому вопросу все еще отсутствуют.

Хотя факторы внешней среды играют важную роль в регулировании старения листьев, остальные части растения, по-видимому, также оказывают влияние, поскольку если диск вишневого листа не полностью вырезать с помощью пробкового бура так, чтобы оставалась небольшая связь с листовой пластинкой, то диск долго останется зеленым, тогда как оставшаяся часть листа постареет. Таким образом, синхронное старение, так же как и постепенное старение, зависит от экспорта материалов из листа.

Мы установили, что старение сорванного листа или же листовых дисков травянистых растений может быть задержано

кинетином и иногда гиббереллином, но не ауксинами. Иная картина наблюдается у древесных растений. Так, если каплю ауксина 2,4-Д капнуть на вишневый лист осенью, то место, на которое попал ауксин, еще долго останется зеленым, после того как весь лист пожелтеет. Аналогичные результаты можно получить с отделенными листьями древесных растений в любое время года. Гиббереллин будет задерживать старение листьев ясёны (*Fraxinus excelsior*). Подобно тому как обработка кинетином и гиббереллином поддерживает в листьях травянистых растений способность к синтезу РНК и белка, обработка 2,4-Д оказывает такой же эффект на листья древесных растений. Таким образом, эндогенные ауксины, видимо, играют важную роль в естественном старении листьев деревьев. Вполне возможно, что влияние длины дня на опадение листьев проявляется через эффект эндогенных гормонов, поскольку в условиях короткого дня листья древесных растений содержат более низкие уровни эндогенных ауксинов и гиббереллинов, чем в условиях длинного (гл. 11).

Пока еще мало известно о факторах, регулирующих старение листьев у вечнозеленых широколиственных деревьев и хвойных. Некоторые виды вечнозеленых растений могут сохранять листья в течение нескольких лет. В отдельных случаях старение более старых листьев происходит лишь тогда, когда появляется новое поколение листьев, что наводит на мысль о существенной роли конкуренции между старыми и новыми листьями у этих видов.

12.5. ГОРМОНЫ И ОПАДЕНИЕ

Сбрасывание вегетативных и репродуктивных органов и тканей — естественный процесс, характерный для всех растений. Растения утрачивают свои части либо в результате отмирания и завядания последних, как, например, у большинства однодольных и таких растений, как картофель с подземными органами, переживающими неблагоприятный период года, либо путем образования отделительного слоя. Орган или ткань, находящиеся ниже отделительного слоя, опадают на землю под влиянием собственного веса или в силу действия внешних сил, например ветра.

Опадение или отделение — процессы, обуславливающие сбрасывание таких тканей, как кора у деревьев и перидерма у корней. Однако, поскольку процесс утрачивания тканей обычно непрерывный, это явление само по себе мало доступно для экспериментального изучения. Напротив, опадение листьев, цветков и плодов — процессы намного более быстрые и заметные, и, кроме того, они часто играют весьма важную роль в сель-

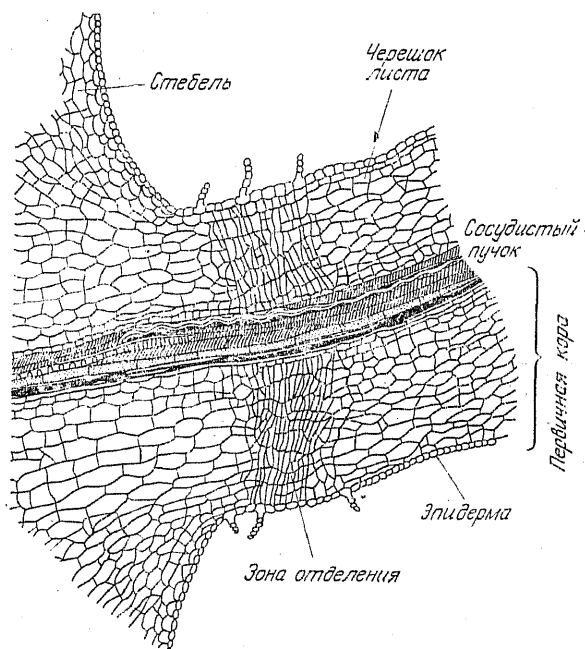


Рис. 12.12. Продольный срез зоны старения в основании черешка листа типичного двудольного растения. (J. Torrey, Development in Flowering Plants, Macmillan, New York, 1967.)

ском хозяйстве и садоводстве. По этой причине гораздо большее внимание уделяется выяснению сущности того, каким образом в таких органах достигается и регулируется опадение.

12.5.1. Опадение листьев

Для листьев большинства видов растений наступает такой момент, когда они опадают со стебля. В умеренных зонах это чаще всего происходит в конце вегетационного периода, но опадение листьев приурочено не только к осени. Менее заметное, но более продолжительное опадение старых листьев в умеренной зоне происходит в течение всего лета, а в тропиках — в течение всего года. Процесс, в результате которого листья (и другие органы, такие, как цветки и плоды) удаляются с растения, называется *опадением*. Опадение органа, например листа, обычно происходит в результате формирования в основании черешка *отделительного* слоя, или *слоя опадения*. Он представляет собой пластинку, состоящую из клеток, ориентированных под прямыми углами к оси черешка (рис. 12.12). Стенки клеток

отделительного слоя размягчаются и становятся желатинообразными, образуя «слабое» место, по которому происходит разрыв при движении листа под порывами ветра.

Общей чертой опадения является то, что, прежде чем произойдет процесс сбрасывания, орган, который должен быть сброшен, подлежит старению. Старение органа, такого, как лист, обычно начинается с дистальных частей и распространяется на проксимальные. Последними стареют клетки, примыкающие к зоне опадения, и на этой стадии точка отделения хорошо заметна в виде желто-зеленого узелка. Этот узелок, следовательно, представляет собой внутреннюю границу между двумя физиологически различными тканями, и именно образование этой внутренней границы в зоне отделения служит сигналом к началу процесса опадения.

Для того чтобы понять процесс опадения, необходимо выяснить ту особенность стареющей ткани, которая инициирует биохимические события, приводящие к опадению. За последние 10 лет становится все более очевидным, что относительно высокие уровни этилена, выделяемые стареющими клетками, расположенными по периферии зоны опадения, являются важным регулирующим фактором. Этилен, вырабатываемый стареющими клетками, вызывает процесс отделения в зоне опадения. У многих видов растений весь стареющий лист образует большие количества этилена, тогда как у других только в стареющих тканях черешка наблюдается повышение образования этилена. И в том и в другом случае происходит повышение концентрации этилена в зоне отделения черешка.

Опадение листьев можно индуцировать искусственно, путем помещения растений в атмосферу этилена при концентрации не менее $0,1 \text{ мкл} \cdot \text{л}^{-1}$. В зависимости от возраста чувствительность листьев к этому газу меняется. Первыми опадают самые старые листья, далее последовательно все более молодые листья, и, наконец, последними опадают самые молодые листья. Такой характер постепенного опадения в ответ на экзогенный этилен, по-видимому, связан с различными уровнями ауксина в листьях, но механизмы, с помощью которых ауксин действует на старение и чувствительность к этилену, еще не известны.

Во многих экспериментах по старению листа изучение проводится на изолированных вычлененных зонах отделения (обычно это узловый эксплантат, несущий черешки, у которых удалены листовые пластинки). В серии таких экспериментов было обнаружено, что обработка ауксином (ИУК) срезанного конца черешка сразу же после удаления листовой пластинки задерживает опадение, однако если обработка ауксином была проведена спустя несколько часов после срезания пластинки, то опадение ускоряется, а не тормозится. На основе этого было высказано предположение, что процесс опадения можно разделить на две

фазы — начальную стадию 1, которая тормозится ауксином, и стадию 2, которая, по-видимому, ускоряется ауксином. Вероятное объяснение существования двух стадий заключается в том, что во время стадии 1 старение или еще не началось, или только что началось, и поэтому ауксин ингибирует процесс старения; однако ко времени наступления стадии 2 процессы старения в черешке эксплантата уже идут полным ходом, и ауксин не способен их остановить. Как мы уже отмечали, стареющие ткани вырабатывают относительно большое количество этилена, кроме того, известно, что ауксин может способствовать синтезу этилена. Следовательно, эксплантат из области узла во второй стадии старения реагирует на добавление ауксина образованием еще большего количества этилена, а клетки в зоне опадения уже чувствительны к этилену, что и приводит к ускорению процесса опадения.

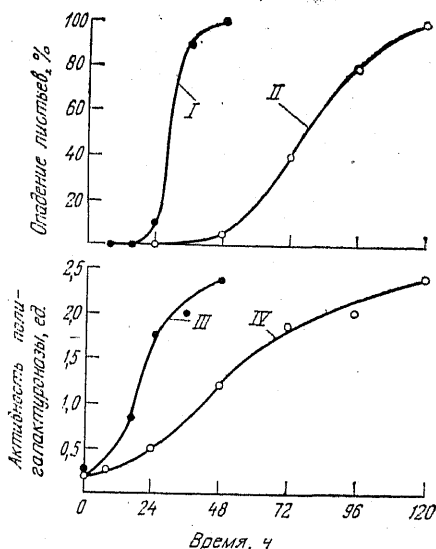
В итоге современное понимание регуляции опадения листьев предусматривает следующую последовательность событий: а) базипетальное развитие старения пластинки в ответ на внешний раздражитель или какой-то внутренний «сигнал»; б) развитие чувствительности к этилену в клетках зоны отделения; в) повышение уровня этилена в клетках, особенно в тех из них, которые являются дистальными по отношению к зоне отделения, до критического уровня, т. е. приблизительно $1 \text{ нл} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$, и, наконец, д) ряд биохимических и физиологических реакций на этот этилен в клетках зоны отделения и клетках, не подвергающихся старению, лежащих непосредственно под зоной старения; «кульминацией» этих реакций является отделение клеток слоя опадения. Ниже мы рассмотрим события, ведущие к отделению клеток, но, прежде чем сделать это, уместно задаться вопросом о том, что регулирует скорость образования этилена в стареющих клетках, лежащих по периферии зоны отделения (дистально).

Имеются данные, что во время старения клеток листа образуется *нелетучее* вещество, которое ускоряет опадение. Оно было названо Осборн «фактором старения» (ФС). Предположительно фактором старения может быть абсцизовая кислота, поскольку обработка АБК вызывает старение и опадение листьев у ряда видов. Однако некоторые данные свидетельствуют против отождествления АБК с ФС. Так, изменения уровней эндогенной АБК в листьях недостаточно коррелирует со временем опадения листьев, и хотя обнаружено, что у некоторых видов экзогенная АБК прямо влияет на скорость образования этилена, у других же это влияние опосредовано действием, интенсифицирующим процессы старения, и только косвенно индуцирующим увеличение синтеза этилена и скорости опадения. В противоположность этому ФС, с одной стороны, ускоряет опадение, а с другой — оказывает *непосредственное* стимулирующее

щее действие на синтез этилена. ФС содержится как в молодых здоровых листьях, так и в стареющих. Однако в молодых листьях ФС находится в форме, нерастворимой в воде (но экстрагирующейся неорганическими растворителями), тогда как в стареющих листьях он оказывается водорастворимым. Значение этих фактов в настоящее время еще не вполне ясно, но хотелось бы думать, что высвобождение ФС в клетках листа, обнаруженное Осборн, может представлять собой то же самое явление, что и высвобождение гомоцистеина из клеточного компартмента при старении цветков *Ipomoea tricolor*, в результате чего увеличивается синтез этилена.

Сам по себе акт отделения листа, представляющий собой реакцию, индуцированную этиленом при соответствующей концентрации, состоит из двух отдельных процессов: а) усиление роста клеток, непосредственно прилежащих к отделительному слою (под ним), и б) синтез и секреция этими клетками растворяющих клеточные стенки ферментов, которые разрушают клеточные стенки расположенных выше стареющих клеток и способствуют разделению двух тканей. Рост ближайших к точке отделения клеток обнаруживается по увеличению скорости синтеза РНК и белка. Важным результатом этого роста является создание физического давления на клетки отделительного слоя, а также обеспечение основы для формирования раневой или рубцовой ткани, которая затягивает поверхность разрыва, после сбрасывания листа. Разрушающие стенки ферменты, синтезируемые и выделяемые растущими проксимальными клетками, состоят из ряда полисахаридных гидролаз, в том числе эндопо-

Рис. 12.13. Сравнительная динамика развития активности полигалактуроназы и процесса старения в листовых эксплантатах *Citrus sinensis*, инкубированных либо в воздухе, либо в воздухе, содержащем 10 ч. на млн. этилена. (По Rivov, Plant Physiol., 53, 312—316, 1974.)
I — старение в воздухе с добавлением этилена; II — старение в чистом воздухе; III — активность полигалактуроназы в воздухе с добавлением этилена; IV — активность полигалактуроназы в чистом воздухе.



лигалактуроназы и целлюлазы ($\beta(1 \rightarrow 4)$ -глюконаза), эффекты которых заключаются, по-видимому, в ослаблении сцепления между клетками. При действии этилена увеличивается синтез этих ферментов и их выделение через плазмалемму ближайших клеток (рис. 12.13). Интересно отметить, что ферменты выделяются исключительно или преимущественно с одной стороны слоя проксимальных клеток; а именно с той, которая граничит с тонким слоем отделительных клеток.

Если клеточные стенки отделительного слоя достаточно ослаблены воздействием полисахаридных гидролаз, окончательный акт разрыва происходит чисто механически. Этому способствуют не только внешние силы, такие, как ветер, но также и увеличение размеров клеток на проксимальной стороне отделительного слоя и обезвоживание стареющих тканей на другой. Вместе это создает силы, разделяющие слой опадения.

12.5.2. Опадение плодов

Явление опадения проявляется также у цветков и плодов. Так, если опыления и оплодотворения не произошло, то у многих видов зона опадения обычно обнаруживается в основании цветоножки. Сходным образом, если оплодотворение оказалось успешным, зона отделения, обеспечивающая опадение плодов, может формироваться на различных стадиях созревания последних. Это хорошо видно у некоторых сортов яблони, кото-

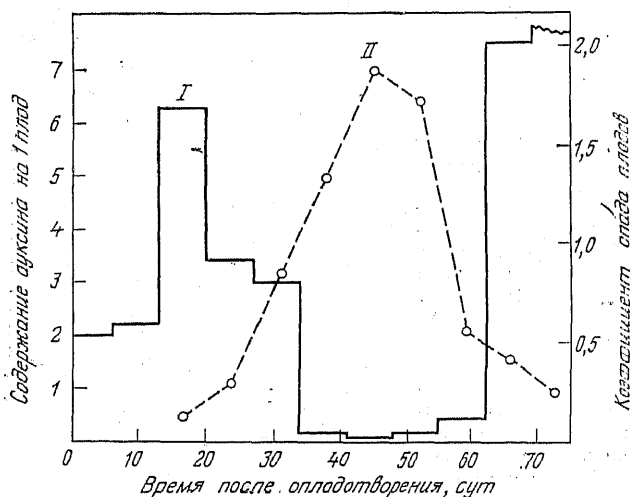


Рис. 12.14. Изменение содержания неидентифицированного кислого ауксина (I) и скорости опадения плодов (II) в ягодах черной смородины. (S.T.C. Wrigth, J. Hort. Sci., 31, 196, 1956.)

рые могут иметь три критических периода опадения плодов: 1) сразу же после опыления («послецветочный опад»), 2) вскоре после начала роста молодых плодов («июньский опад») и 3) во время созревания («предурожайный опад»).

Для некоторых видов было продемонстрировано, что периоды опадения плодов совпадают с периодами низкого содержания ауксина в плодах и наоборот, время незначительного опада совпадает с высоким содержанием ауксина. Такая ситуация обнаружена у черной смородины, у которой, как мы уже видели, возможна корреляция скорости роста между уровнями двух ауксинов — кислого и нейтрального (рис. 5.19). Было показано наличие второго кислого ауксина, уровни которого проявляют различный характер изменения и который находится в обратной корреляции со скоростью опадения плодов (рис. 12.14). Такая ситуация аналогична ситуации, наблюдающейся в листьях, где формирование отделительного слоя связано с уменьшением уровня ауксинов в листовой пластинке.

Вместе с тем у некоторых видов колебания скорости опада плодов не коррелируют с уровнями ауксина, и в данном случае опад плодов определяется другими факторами. В самом деле не вызывает сомнения тот факт, что этилен принимает участие в регуляции опадения плодов, равно как и листьев, поскольку это вещество способствует старению и опадению плодов.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Abeles F. B., 1973. Ethylene in Plant Biology, Academic Press, New York and London.
Leopold A. C., Kriedemann P. E., 1975. Plant Growth and Development, 2nd ed., McGraw-Hill, New York.
Pitt D., 1975. Lysosomes and Cell Function, Longman, London.
Woolhouse H. W., 1972. Ageing Processes in Higher Plants, Oxford Biology Readers, Oxford University Press, Oxford.
Thimann K. V. (ed.), 1980. Senescence in Plants. Vol. I—II, C. R. C. Press, USA.

Специальная литература

- Articles by: Woolhouse H. W., Simon E. W., Woolgiehn R., Osborne D. J., Wareing P. F., Seth A. K., Carr D. J., Pate J. S. (1967). In: Aspects of the Biology of Ageing, Symp Soc. Exp. Biol., 21.
Beevers L., 1976. Senescence. In: Plant Biochemistry, 3rd ed. (ed. J. Bonner and J. E. Varner), pp. 771—794, Academic Press, New York.
Carns H. R. (1966). Abscission and its control, Ann. Rev. Plant Physiol., 17, 295.
Hanson A. D., Kende H. (1976). Methionine metabolism and ethylene biosynthesis in senescent flower tissue of Morning-glory, Plant Physiol., 57, 528—37.
Kende H., Hanson A. D., (1976). Relationship between ethylene evolution and senescence in Morning-glory flower tissue, Plant Physiol., 57, 523—527.

- Matile Ph.*, 1975. The Lytic Compartment of Plant Cells, Springer-Verlag, Wien and New York.
- Sacher J. A.* (1973). Senescence and postharvest physiology, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **24**, 197—224.
- Thomas H., Stoddart J. L.* (1980). Leaf senescence, *Annual Rev. Plant Physiol.*, **31**, 83—111.
- Various articles by: Kozlowski T. T., Webster B. D., Addicott F. T., Lyon J. L., Osborne D. J., Millington W. F., Chaney W. R., Borger G. A., Sweet G. B., 1973. In: T. T. Kozlowski (ed), *Shedding of Plant Parts*, Academic Press, New York and London.

РАЗДЕЛ IV

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ОБЩИЕ АСПЕКТЫ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ.

Введение

Итак, мы рассмотрели развитие растения с нескольких довольно различных точек зрения. В двух первых главах это был взгляд на развитие с позиций анатома-экспериментатора и морфолога. Затем мы проанализировали влияние фитогормонов и обсудили их роль в различных явлениях роста и развития. И наконец, мы рассмотрели физиологи цветения, старения и покоя, включая влияние внешних, таких, как длина дня, и внутренних, таких, как гормоны, факторов. В данной главе мы перейдем к молекулярным и более общим аспектам развития.

Сначала мы кратко суммируем современное состояние знаний об организации генома эукариот и о процессах, участвующих в регуляции экспрессии генов, что будет полезно читателям, незнакомым с этими вопросами. Такая информация послужит основой для последующей дискуссии о других общих аспектах дифференцировки, особенно о значении детерминации клеток в развитии растений.

Экспрессия генов и детерминация клеток в развитии

13.1. ГЕНЫ И РАЗВИТИЕ

До сих пор мы уделяли мало внимания генетическим аспектам развития, а между тем всякий организм по определению является продуктом взаимодействия между его генетическими потенциальными возможностями и внешней средой. Поэтому в конечном счете развитие следует описывать, исходя из активности генов.

Тот факт, что процессы развития в своей основе контролируются генами, самоочевиден, так как известны генетические изменения, влияющие почти на все стороны развития: на морфологию (форма листьев и плодов, окраска цветков и т. п.) и анатомию, а также на физиологические свойства, такие, как скорость роста, время зацветания и продолжительность периода покоя. Таким образом, представляется несомненным, что тип развития каждого индивидуума первично определяется «программой», заложенной в его генетическом коде.

В процессе развития происходит постепенная дифференцировка органов и тканей, что приводит к возникновению большого разнообразия типов клеток. Однако не все гены, входящие в состав генома, активны в каждый данный момент и в каждой данной части растения. Так, гены, контролирующие развитие цветков, обычно не экспрессируются ни у зародышей, ни во время чисто вегетативной фазы развития. Вместе с тем мы знаем, что клетки таких вегетативных органов, как лист, содержат гены для развития цветков, поскольку из клеток листьев некоторых видов могут регенерировать новые растения, способные к цветению. Следовательно, дифференцировка у растений не связана с генетическими (т. е. наследственными) различиями между ядрами различного типа клеток и тканей. В таком случае она должна определяться различиями в *экспрессии генов* в тех или иных частях растения или на тех или иных стадиях его жизненного цикла.

Поскольку развитие является строго упорядоченным процессом, необходимо, чтобы определенные гены экспрессировались в надлежащее время и в надлежащих клетках. Иными словами, развитие — это, по существу, процесс, связанный с избирательной экспрессией генов, а концепция развития, согласно которой активность определенных групп генов регулирует синтез фер-

ментов и других белков, характерных для специализированных клеток, получила название *теории дифференциальной активности генов*. В ходе клеточной дифференцировки должны существовать какие-то способы регуляции активности специфических генов, и поскольку развитие — это высокоупорядоченный процесс, должен существовать какой-то механизм, определяющий последовательность работы генов. Поэтому мы должны попытаться понять, каким образом достигается избирательная экспрессия генов.

В понятие экспрессии генов входит: 1) транскрипция ДНК с образованием ядерной РНК, 2) процессинг ядерной РНК с образованием матричной РНК, 3) трансляция мРНК с передачей заключенной в ней информации в последовательность аминокислот, включающихся в белок, 4) участие ферментов в различных реакциях с образованием конечных продуктов экспрессии генов. Основные черты этих процессов хорошо известны, и здесь не следует останавливаться на них подробно. Однако, прежде чем обсуждать регуляцию избирательной экспрессии генов в развитии, мы рассмотрим строение и организацию генома эукариот.

13.2. СОСТАВ ГЕНОМА ЭУКАРИОТ

Геном прокариотического организма, такого, как бактерия *Escherichia coli*, состоит из одной хромосомы, представляющей собой двойную спираль ДНК, имеющую кольцевое строение и свободно лежащую в цитоплазме. При клеточном делении две образовавшиеся в результате репликации двухцепочечные молекулы ДНК без митоза распределяются между двумя дочерними клетками.

Геном эукариот неизмеримо сложнее, чем геном прокариот, и содержит гораздо большее количество ДНК. Кроме того, пластыды и митохондрии растительных клеток содержат свою собственную ДНК (с. 458). Было подсчитано, что общая длина ядерной ДНК одной клетки *Vicia faba* составляет около 9 м, так что если бы эта ДНК реплицировалась как непрерывная цепь, то распределение ДНК между дочерними клетками во время клеточного деления представляло бы непреодолимые трудности чисто механического характера. Эта проблема была решена путем упаковки генома в отдельные хромосомы, где цепи ДНК уложены очень компактно благодаря спирализации и «суперспирализации». Кроме того, в интерфазных клетках геном не лежит свободно в цитоплазме, как у прокариот, а расположен внутри ядра, отделенного от цитоплазмы ядерной оболочкой. Связь между ядром и цитоплазмой поддерживается через поры в ядерной оболочке. Во время профазы митоза или мейоза ДНК сильно конденсируется, образуя плотные спира-

ли — в действительности можно выявить спирализацию разного уровня, от спиральных молекул до суперспиралей, различимых с помощью светового микроскопа.

Можно приготовить сравнительно чистые препараты материала интерфазных хромосом, называемого «хроматином». Анализ хромосом и хроматина (с. 462) показывает, что они состоят не только из ДНК, но и из большого количества белков, составляющих 70% всего материала, а также различных количеств РНК. Белки хроматина можно разделить на два класса: 1) основные белки, называемые гистонами, и 2) кислые белки.

Гистоны богаты основными аминокислотами — лизином и аргинином. Они довольно гомогенны и разделяются только на пять главных классов в зависимости от содержания в них лизина и аргинина. У разных видов растений строение гистонов варьирует очень незначительно. Это позволяет предположить, что они играют очень важную роль и мало изменились в ходе эволюции.

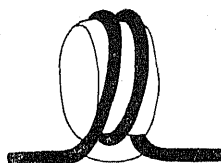
Количество гистонов в хромосомах примерно равно количеству ДНК, с которой они связаны электростатическим притяжением между отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК и положительно заряженными основными аминокислотами гистонов. Очевидно, присутствие гистонов, связанных с ДНК, вызывает ее суперспирализацию благодаря взаимодействию между аминокислотами в молекулах гистонов, которое осуществляется посредством водородных связей и электростатического притяжения и отталкивания.

Присутствующие в хроматине негистоновые кислые белки гораздо разнообразнее по размеру и составу, так что можно выделить более сотни разных белков. В отличие от гистонов кислые белки из различных тканей животных различны и характеризуются тканевой специфичностью при связывании с ДНК. Многие кислые белки фосфорилированы, и степень фосфорилирования меняется в течение клеточного цикла и в процессе развития животных. Фосфорилирование может приводить к конформационным изменениям, которые в свою очередь могут влиять на связывание кислых белков с ДНК или гистонами. Фосфорилирование осуществляется ферментами, известными под названием протеинкиназ, в большом числе содержащихся в ядрах.

Среди кислых белков имеются также ряд ДНК- и РНК-полимераз. В общем для тканей или органов с высокой метаболической активностью типично высокое содержание кислых белков хроматина, тогда как метаболически неактивные ткани содержат их мало. Позже мы увидим, что кислые белки хроматина играют определенную роль в регуляции экспрессии генов.

Было обнаружено, что комплексы ДНК с белками организованы в ряд дискретных сферических частиц, «нуклеосом», ко-

Рис. 13.1. Модель строения нуклеосомы. ДНК обернута вокруг плоского белкового цилиндра, состоящего из гистонов. (R. A. Laskey, W. C. Earnshaw, Nature, 286, 763, 1980.)



торые напоминают бусинки ожерелья (рис. 13.1). Сердцевина нуклеосом состоит из гистонов, по две молекулы каждого из четырех различного типа гистонов, а на поверхности нуклеосом локализована ДНК длиной в 150—250 пар нуклеотидов. Небольшие участки ДНК, связанные с тяжелым гистоном, объединяют одну нуклеосому с другой.

13.3. ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА ЭУКАРИОТ

У бактерий, таких, как *E. coli*, хромосома содержит 10^6 пар нуклеотидов, что соответствует примерно 1000 генам, тогда как ядра растений и животных содержат гораздо больше количества ДНК. Например, диплоидное ядро *Vicia faba* содержит $29 \cdot 10^{-12}$ г ДНК. $1 \cdot 10^{-12}$ г ДНК соответствует $1 \cdot 10^9$ парам нуклеотидов, что достаточно для кодирования $8,5 \cdot 10^5$ белков с молекулярным весом 50 000. Следовательно, ДНК, содержащейся в ядре *Vicia faba*, достаточно для кодирования около $25 \cdot 10^6$ генов.

Вместе с тем данные генетических исследований на растениях и животных, а также на хромосомах слюнных желез *Drosophila*, где каждый диск, вероятно, соответствует одному гену, показывают, что число функциональных генов, кодирующих белки, не превышает нескольких тысяч. Представляется также удивительным, что очень близкие виды растений сильно различаются по содержанию ДНК. Так, клетки *Vicia faba* содержат в 7 раз больше ДНК, чем близкородственный вид *V. sativa*, хотя не ясно, зачем первому виду необходимо большее число генов.

Разгадка этих парадоксов была получена при изучении ренатурации ДНК прокариот и эукариот. Две цепи двойной спирали ДНК можно разделить при нагревании или обработке щелочью, а затем ренатурировать, т. е. позволить восстановиться двухцепочечной структуре при подходящих рН и температуре. Спариваются и ренатурируют только комплементарные одинарные цепи, и скорость ренатурации зависит от концентрации комплементарных последовательностей: чем выше их концентрация, тем чаще происходит спаривание и, следовательно, тем быстрее идет ренатурация. Поскольку одноцепочечная ДНК сильнее поглощает ультрафиолетовый свет, чем двухцепочечная, о скорости ренатурации можно судить по уменьшению поглощения при 260 нм, измеряемого на спектрофотометре. Ско-

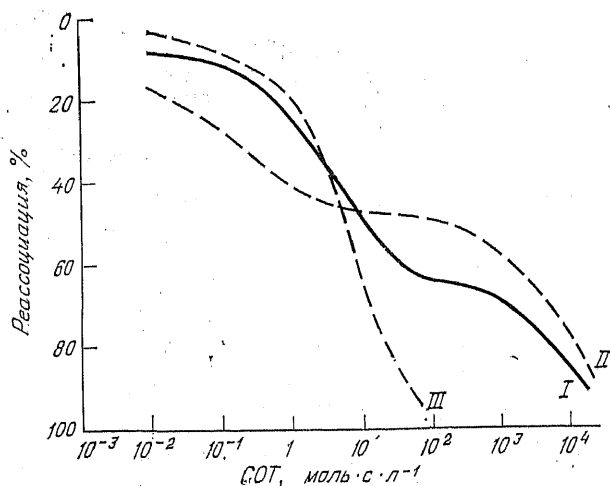


Рис. 13.2. Кривые реассоциации ДНК, полученные от двух эукариотических организмов, *Lathyrus sativus* (I) и теленка (II), а также от прокариотического организма *E. coli* (III). (Из H. Rees, R. N. Jones, Chromosome Genetic, Edward Arnold, London, 1977.)

рость ренатурации ДНК выражают в процентах реассоциации в зависимости от концентрации нуклеотидов, умноженной на время (моль·с/л), — COT.

Кривые зависимости реассоциации от COT, полученные для бактериальной ДНК, лишены перегибов, а ДНК эукариот реассоциирует по другому типу (рис. 13.2). При низких концентрациях ДНК и коротком времени инкубации ренатурирует заметная доля одноцепочечной ДНК, а при увеличении COT образуется дополнительное количество двухцепочечных молекул, так что получается двухфазная кривая. Быстрая ренатурация при низких значениях COT показывает, что какие-то последовательности у эукариот повторяются много раз, т. е. до 10 000 раз и более.

Такого рода исследования показали, что геномы эукариот содержат последовательности ДНК разных типов с разной степенью повторяемости отдельных нуклеотидных последовательностей. Один тип («частые повторы») состоит из быстро ренатурирующих последовательностей ДНК, представленных 10⁵—10⁶ копиями; другой, *промежуточный*, класс состоит из последовательностей, повторяющихся 10²—10⁵ раз; существует класс *умеренно повторяющихся* (20—50 копий) и класс *уникальных* (неповторяющихся) последовательностей, представленных 1—2 копиями. Таким образом, большая доля ДНК генома эукариот состоит из множества копий определенных последова-

тельностью, и различия в количестве ДНК у разных видов можно приписать различному количеству повторяющейся ДНК.

Было обнаружено, что иногда повторяющиеся последовательности сгруппированы в определенных участках генома. Например, наиболее частые повторы составляют так называемую «сателлитную» ДНК, которая при центрифугировании общей ДНК в градиенте плотности дает отдельную полосу. Эта сателлитная ДНК состоит из более чем 10^6 копий коротких простых нуклеотидных последовательностей. Такую сателлитную ДНК можно использовать как матрицу для синтеза радиоактивной комплементарной РНК, и если такую копию сателлитной ДНК мыши добавить к препарату хромосом мыши, то радиоактивность сконцентрируется в области центромер каждой из хромосом. По-видимому, сателлитная ДНК может быть связана с функционированием центромер. Однако в подобных опытах, проведенных с сателлитной ДНК растений, радиоактивность появлялась в различных участках хромосом. Следовательно, функции этого класса повторяющейся ДНК, вероятно, не обязательно специфически связаны с центромерами. Итак, функция сателлитной ДНК еще не выяснена, но она не кодирует ни один из клеточных белков. Было высказано предположение, что она играет структурную роль или вовлечена в процесс спаривания хромосом.

Другой класс локально расположенных повторяющихся последовательностей ДНК представлен генами, кодирующими рибосомную РНК, составляющую до 90% всей РНК клетки. Основным местом образования рибосом является ядрышко, и тем же методом, который был описан для сателлитной ДНК, было показано, что большинство генов, кодирующих рибосомную РНК, расположено в ядрышке группами из нескольких тысяч копий на одну клетку растения.

Имеются также данные о повторах генов, кодирующих гистоны. В яйцах морских ежей они представлены 400—1200 копиями и опять-таки собраны в группу. Таким образом, участки генома, связанные со структурой рибосом и хромосом, по-видимому, состоят из многократно повторяющихся последовательностей.

Есть еще одна группа повторяющихся последовательностей, которые, очевидно, расположены не локально, а диффузно по всему геному. Об этом свидетельствуют результаты опытов, в которых измеряли степень ренатурации как функцию размера используемых фрагментов ДНК. Было обнаружено, что в большинстве случаев эти повторяющиеся последовательности распределены по всему геному и вставлены между уникальными (неповторяющимися) последовательностями ДНК. Обычно считается, что уникальная ДНК содержит как структурные гены, кодирующие белки, так и другие гены, функция которых неиз-

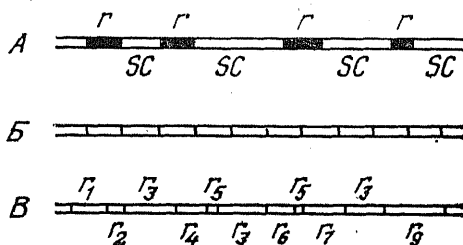


Рис. 13.3. Три типа расположения повторяющейся ДНК, характерные для хромосом высших растений. (Из R. Flavell, 1980.)

А. Короткие отрезки повторяющейся ДНК (repeated, r) длиной 50—200 пар оснований чередуются с уникальной ДНК (single copy, SC) длиной 200—4000 пар оснований. Б. По существу, одинаковые повторяющиеся участки, расположенные тандемно. В. Независимые друг от друга короткие повторы (r_1 — r_4), расположенные в различных сочетаниях.

вестна. Подобное исследование, проведенное на растениях табака, показало, что: 1) повторяющиеся последовательности большей частью короткие и состоят в среднем из 300 пар нуклеотидов; 2) повторяющиеся последовательности разделены уникальными последовательностями ДНК длиной 1400, а иногда 4000 нуклеотидов. Размеры повторяющихся и уникальных последовательностей ДНК различаются у разных животных и растений (некоторые примеры показаны на рис. 13.3).

Разработка изящной методики «клонирования» ДНК для получения большого количества точных копий специфических фрагментов ДНК (рис. 13.4) открыла в последнее время новые горизонты в изучении структуры, организации и функции генома. Если расщепить двухцепочечную ДНК одним из ферментов «рестрикции» (одной из нуклеаз), специфично узнающих и расщепляющих короткие последовательности нуклеотидов (4—6 пар), то возникают в высшей степени воспроизводимые фрагменты ДНК. Концы двух цепей ДНК обычно бывают смещены относительно друг друга вследствие специфичности мест разрезания двухцепочечной молекулы, цепи которой комплементарны по составу оснований. Если плазмидную ДНК (самореплицирующаяся внехромосомная двухцепочечная ДНК, обычно содержащаяся в бактериальных клетках) расщепить тем же ферментом рестрикции, то концы, образующиеся на исследуемой ДНК и плазмиде, будут одинаковыми, так что в условиях, когда эти ДНК смогут соединиться, фрагменты исследуемой ДНК с низкой частотой будут встраиваться в плазмидную последовательность. ДНК обычно встраивают в плазмидный ген, важный для селекции, такой, как ген устойчивости к антибиотикам, что позволяет содержащим такую плазмиду бактериям расти в присутствии антибиотика.

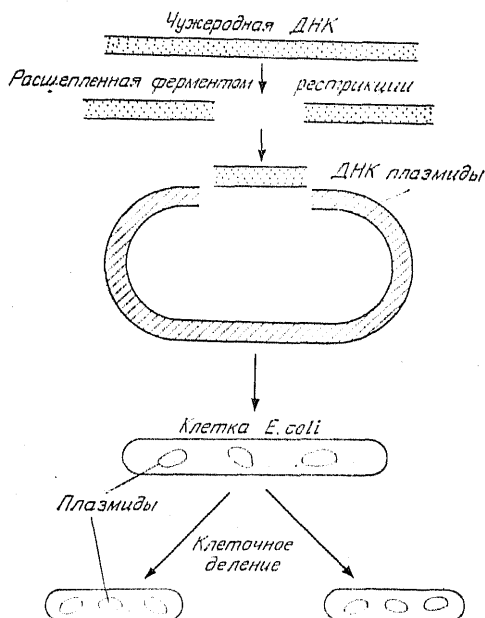


Рис. 13.4. Метод рекомбинации ДНК. (С. Grobstein, Sci. Amer., 237(1), 22 1977.) ДНК «чужого» организма сначала обрабатывают ферментами рестрикции, расщепляющими ее в случайных участках, но по вполне определенным нуклеотидным последовательностям двухцепочечной молекулы. Потом тем же ферментом расщепляют ДНК плазмиды, выделенной из *E. coli*. При подходящих условиях концы отрезка чужеродной ДНК могут спариваться с последовательностями плазмиды и восстанавливать ее циклическую форму. Плазмиду затем можно ввести в клетку *E. coli*, где она будет реплицироваться. Таким путем можно получить большое число «клонированных» копий встроенной последовательности нуклеотидов чужеродной ДНК.

Восстановленные лигазами плазмиды вновь вводят в бактериальные клетки, и бактерии, содержащие эти плазмиды, в которых встроенная ДНК инактивирует ген «селекции», отделяют от бактерий, содержащих нормальные плазмиды или вообще не содержащих плазмид, выращивая их на средах с различными концентрациями антибиотика. В бактериях при репликации образуется много копий плазмид, и таким образом можно «вырастить» большие количества встроенных фрагментов ДНК, а затем снова просто выделить их путем расщепления тем же самым ферментом рестрикции с разделением полученных продуктов гель-электрофорезом. Использование этого метода рекомбинации ДНК произвело революцию в изучении генов.

13.4. ПРОЦЕССИНГ ПРОДУКТОВ ТРАНСКРИПЦИИ

Как мы уже видели (с. 453), в большинстве клеток основным местом образования рибосом является ядрышко, и гены, кодирующие рибосомную РНК (рРНК), находятся в ядрышковом организаторе.

Рибосомная РНК состоит из двух крупных молекул разного размера, у растений 25 S и 18 S (у животных 28 S и 18 S), и небольшой 5S-РНК. (Размер макромолекул выражают коэффициентом седиментации, S, и определяют по скорости седиментации при высокоскоростном центрифугировании.) 25S- и 18S-РНК кодируются разными, но, очевидно, тесно сцепленными генами, так как при синтезе рибосомной РНК сначала образуется тяжелый (33—38 S) предшественник, содержащий последовательности как 18S-, так и 25S-РНК (рис. 13.5). Молекулы тяжелого предшественника никогда не покидают ядро, а с помощью особых ферментов процессинга превращаются в более мелкие молекулы. Участки ДНК, кодирующие 18S- и 25S-РНК, расположены так, что они разделены небольшим отрезком ДНК, который транскрибируется, но затем в ходе процессинга удаляется. Кроме того, имеются более длинные связанные с этими генами

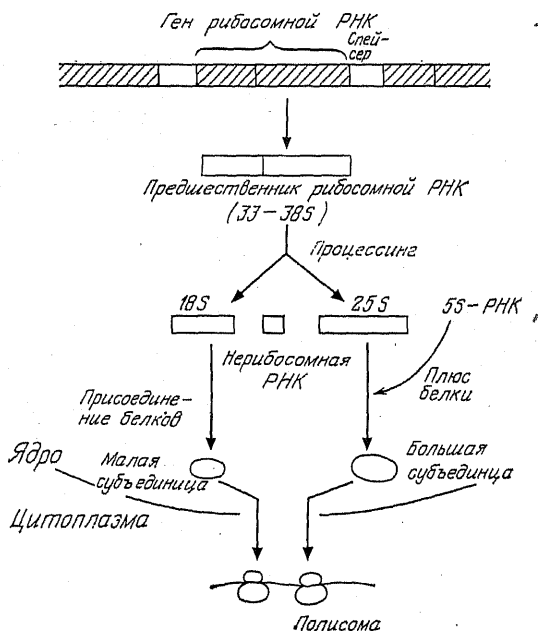


Рис. 13.5. Схема синтеза и процессинга предшественника рибосомной РНК и образования рибосом.

последовательности ДНК, никогда не транскрибирующиеся в РНК. Их называют спейсерной ДНК.

5S-РНК, входящая в состав большой субъединицы рибосомы, по-видимому, транскрибируется отдельно. Имеется несколько генов, кодирующих 5S-РНК, но они, очевидно, локализованы не в ядрышке.

Матричная РНК (мРНК) также образуется в результате транскрипции ДНК в ядрышке. Однако исходно синтезируемые в ядре молекулы РНК гораздо крупнее, чем мРНК, которая выходит из ядра в цитоплазму. Следовательно, представляется вероятным, что как и в случае предшественника рибосомной РНК, исходный крупный транскрипт для его превращения в мРНК должен подвергнуться процессингу. Размер исходных крупных транскриптов (т. е. число содержащихся в них нуклеотидов) сильно варьирует, поэтому их называют *гетерогенной ядерной РНК* (гяРНК).

В последнее время обнаружены удивительные факты, касающиеся процессинга гяРНК в тканях животных. Анализ генов эукариот показал, что кодирующие последовательности ДНК расположены не непрерывно, а прерываются одним или более участками «молчащей» ДНК, не кодирующей белки. Дальнейшие исследования показали, что эти молчащие последовательности вырезаются в ходе процессинга, а остающиеся участки «сшиваются» с образованием мРНК. Итак, гетерогенная ядерная РНК состоит из длинных продуктов транскрипции, из которых путем сплайсинга образуются гораздо меньшие по размеру молекулы зрелой информационной (матричной) РНК.

Пока еще слишком рано применять эти новые концепции к проблеме регуляции экспрессии генов у эукариот, но ясно, что должен существовать очень точный механизм ферментативного вырезания участков гяРНК; такой механизм должен участвовать и в процессинге рибосомной РНК. мРНК образуется из оставшихся фрагментов с помощью ферментов лигаз.

13.5. ИНФОРМАЦИОННАЯ РНК

В прошлом исследование синтеза мРНК сильно осложнялось трудностями, связанными с ее идентификацией и очисткой. Кроме того, специфические мРНК часто содержатся в клетке в очень низких количествах. Однако благодаря ряду усовершенствований в методах многие из этих трудностей теперь преодолены, и наши знания о мРНК быстро пополняются. Во-первых, разработка методик с использованием бесклеточных белоксинтезирующих систем *in vitro* позволила исследовать способность фракции РНК направлять синтез специфических белков. Во-вторых, тот факт, что во многих РНК присутствует последовательность полиадениловой кислоты [poly(A)], сыграл важную роль

в разработке методов очистки poly (A)-содержащих фракций мРНК.

Растительные клетки обычно синтезируют большое число различных белков, так что в соответствии с этим в них содержится большое число мРНК, каждая из которых присутствует в сравнительно низкой концентрации. Однако если клетка синтезирует много какого-то одного белка, как в случае образования леггемоглобина в клубеньках на корнях сои, то там имеются большие количества соответствующей мРНК, и ее можно выделить. Это было сделано для леггемоглобина, и очищенную мРНК использовали в бесклеточной системе из зародышей пшеницы, причем белок, синтезированный *in vitro*, оказался леггемоглобином. Подобные результаты получены и с мРНК для малой субъединицы рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы и для фенилаланин—аммиак-лиазы.

Метод рекомбинации ДНК применим также для изучения молекул РНК. С помощью фермента обратной транскриптазы, использующего мРНК в качестве матрицы, можно синтезировать одноцепочечную ДНК-копию (кДНК), а затем с помощью ДНК-полимеразы *E. coli* синтезировать вторую, комплементарную ей цепь ДНК и образовать двухцепочечную ДНК. Эту ДНК можно встраивать в плазмиды и клонировать, как это рассмотрено выше (с. 454). Таким способом удалось определить нуклеотидную последовательность ряда специфических мРНК эукариот. Использование подобных ДНК, комплементарных специфическим мРНК, позволило идентифицировать и впоследствии выделить индивидуальные гены из генома.

У растения табака примерно 60% всей массы мРНК состоит из сравнительно немногих ее специфических типов, представленных тысячами копий на клетку. Однако остальные 40% мРНК составляют виды РНК, представленные всего несколькими копиями на клетку (уникальная мРНК), и число таких различных видов очень велико. Известно, например, что число специфических мРНК в листе табака составляет около 27 000, а в целом растении за время его жизни экспрессируются по меньшей мере 60 000 различных структурных генов!

13.6. ДНК ОРГАНЕЛЛ

Митохондрии и хлоропласты не возникают *de novo*, а образуются из предшествующих органелл. Они передаются от одного клеточного поколения к другому, распределяясь во время митоза между дочерними клетками.

Было показано, что тщательно очищенные препараты митохондрий и хлоропластов содержат ДНК. Действительно, с помощью электронного микроскопа на срезах этих органелл можно видеть нити ДНК. ДНК органелл отличается от ядерной по

составу оснований, и в ряде случаев она является кольцевой. Поэтому создается впечатление, что хлоропласты и митохондрии имеют свой собственный (независимый от ядерного) геном. Так, выделенные хлоропласты и митохондрии могут включать радиоактивные аминокислоты в белки, что свидетельствует о наличии в этих органеллах аппарата белкового синтеза. Однако геном органелл очень невелик, и значительную долю каждого генома составляют матрицы для образования рибосомной и транспортной РНК.

Рибосомы органелл меньше цитоплазматических и отличаются от последних чувствительностью к таким препаратам, как пуромидин, циклогексимид и хлорамфеникол. Органеллы кодируют свою собственную рибосомную РНК, но белки для рибосом органелл, по-видимому, синтезируются на цитоплазматических рибосомах и поэтому, вероятно, не кодируются геномом органелл. С помощью методов гибридизации ДНК/РНК было установлено, что по крайней мере часть РНК органелл кодируется ДНК хлоропластов и митохондрий.

ДНК хлоропластов кодирует некоторые белки, например большую субъединицу фотосинтетического фермента, рибулозобисфосфат-карбоксилазы. Однако хотя часть компонентов органелл образуется внутри их, большая часть присутствующих в них белков, в том числе ДНК- и РНК-полимеразы, поступают из цитоплазмы.

13.7. РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У БАКТЕРИЙ

Некоторые ферменты бактерий содержатся в них всегда, и их называют *конститутивными*. Другие ферменты, напротив, синтезируются только в ответ на появление во внешней среде соответствующего субстрата. Например, если бактерия *Escherichia coli* растет на среде без галактозида (т. е. вещества, содержащего сахар галактозу, соединенный с молекулой иной природы), то в ней образуются только следовые количества фермента β -галактозидазы, но при добавлении галактозида скорость синтеза этого фермента сразу же очень сильно увеличивается. Такие ферменты называют *индуцибельными*. Удаление субстрата приводит к почти немедленному прекращению синтеза фермента.

Помимо индукции синтеза в других ферментных системах наблюдается *подавление (репрессия)* их синтеза. Например, если выращивать *E. coli* на среде, не содержащей аминокислоты гистидина, то активно образуются ферменты синтеза гистидина. Но как только гистидин добавляют в среду, синтез этих ферментов прекращается. В данном случае, следовательно, происходит подавление синтеза ферментов. Это явление известно как *подавление конечным продуктом*, поскольку продукт цепи

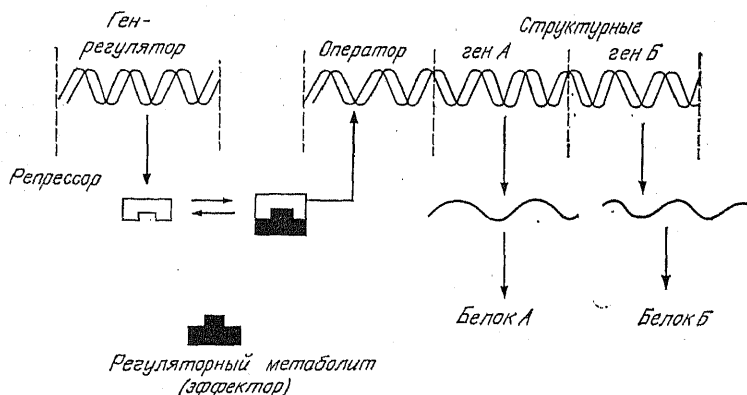


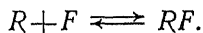
Рис. 13.6. Схема, иллюстрирующая теорию регуляции синтеза белка Жакоба и Моно (см. текст).

реакций (в данном случае гистидин) подавляет образование ферментов, занятых в его биосинтезе. В результате если внести конечный продукт в среду, то он подавляет свой собственный синтез, и, следовательно, клетка перестает образовывать это вещество. Такой контроль синтеза будет регулировать содержание этого вещества в клетке, если нормально происходит постоянное обновление фермента, т. е. если он метаболически постоянно разрушается, но эта система не будет работать в случае стабильных ферментов.

Явление индукции и репрессии ферментов привело Жакоба и Моно к созданию общей теории регуляции активности генов у бактерий, которую мы сейчас кратко рассмотрим. Ген, определяющий структуру какого-либо специфического ферментного белка, называют *структурным геном*. Синтез мРНК начинается только в определенном локусе на цепи ДНК, получившем название *оператора* (рис. 13.6). В некоторых случаях один оператор может регулировать транскрипцию нескольких соседних структурных генов. Участок ДНК, находящийся под контролем одного оператора, называют *опероном*. Он может содержать один или несколько структурных генов.

Скорость транскрипции структурных генов регулируют другие гены, получившие название *генов-регуляторов*. Ген-регулятор образует белок, называемый *репрессором*. Считается, что репрессор, образованный данным геном-регулятором, обладает сродством к определенным специфическим генам-операторам, с которыми он связывается. При этом прекращается образование мРНК во всем опероне, находящемся под контролем этого оператора и, следовательно, прекращается синтез специфических белков, кодируемых структурными генами оперона.

Репрессор (R) обладает свойством реагировать с определенными малыми молекулами, называемыми *эффекторами* (F), что можно выразить следующим уравнением:



В индуцибельной системе активна только R -форма репрессора, которая блокирует транскрипцию оперона. Присутствие эффектора (или индуктора) инактивирует репрессор и, следовательно, позволяет протекать синтезу мРНК. В репрессируемых системах, наоборот, репрессор активен только в связанной RF -форме. Следовательно, синтез мРНК на опероне, идущий в отсутствие эффектора (или метаболита-ингибитора), прекращается в его присутствии. Эти положения схематически проиллюстрированы на рис. 13.6.

Возможно, что репрессор является «аллостерическим» белком с двумя активными центрами, один из которых способен реагировать с оператором, а второй — с молекулой индуктора или ингибитора. Было высказано предположение, что вследствие взаимодействия репрессора с индуктором может изменяться его конформация, так что он теряет способность реагировать с оператором, который при этом «дерепрессируется».

13.8. РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ЭУКАРИОТ

Хотелось бы думать, что способ регуляции экспрессии генов, установленный для бактерий, применим также и к эукариотам. Однако имеется очень мало данных в пользу существования оперона у эукариот, у которых гены, влияющие на близкие фенотипические признаки, совсем не обязательно расположены рядом и могут быть локализованы даже в нескольких различных хромосомах.

И все же известно, например, что у кукурузы имеются гены, очевидно обладающие некоторыми чертами регуляторных генов. Так, локус генома кукурузы, названный *Dissociation* (*Dis*), по-видимому, находится под контролем другого локуса *Activator* (*Ac*) и в отсутствие последнего не может функционировать. *Dis* в свою очередь влияет на экспрессию ряда других генов и, следовательно, аналогичен гену-оператору у бактерий, а *Ac* можно считать геном-регулятором. Например, в некоторых случаях *Dis* обуславливает такое поведение гена *C*, детерминирующего окраску алейронового слоя в зернах, как если бы это был его рецессивный аллель, *c*, и алейроновый слой становится бесцветным. Таким образом, *Dis*, очевидно, подавляет активность гена *C*. На основании этих и других наблюдений Мак-Клинток предположила, что хромосомы высших растений содержат как гены, так и «контроллеры», регулирующие активность генов.

Изучать регуляцию экспрессии генов у эукариот очень трудно из-за размера и сложности их генома. Действительно, в их хроматине имеются как уникальные, так и повторяющиеся последовательности, а, кроме того, помимо ДНК в геноме содержится ряд других веществ, таких, как гистоны, кислые белки и РНК. Поэтому всякие гипотезы, касающиеся точного механизма регуляции экспрессии генов у эукариот, в настоящее время могут быть только чисто спекулятивными. Даже сам факт существования разнообразных теорий свидетельствует об отсутствии твердых знаний в этой области.

Однако путем гибридизации ДНК и РНК были получены надежные данные, говорящие о том, что различные ткани содержат качественно разные транскрипты с уникальных и повторяющихся последовательностей ДНК. Так, работа, проведенная на растениях табака, показала, что в каждой из основных типов изученных тканей (тканей листа, стебля, корня, лепестков, завязи, пыльников) имеется около 25 000—30 000 различных видов мРНК, и из них около 8 000 видов одинаковы для всех типов тканей. Остальные различные виды мРНК, очевидно, специфичны для каждого вида ткани, так что каждая ткань, по-видимому, обладает уникальным набором мРНК, который соответствует тысячам различных структурных генов.

Отсюда следует, что в каждом данном типе ткани только небольшая доля всей ядерной ДНК представлена в цитоплазме соответствующей ей мРНК. Принято считать, что это указывает на избирательную регуляцию транскрипции в ядре в процессе дифференцировки: транскрибируется только небольшая доля общей ДНК, а остальная ее часть недоступна для транскрипции.

Согласно одной из гипотез, избирательность экспрессии генов достигается «маскированием» и «демаскированием» различных участков генома. Эта гипотеза подтверждается данными, полученными на изолированном хроматине. Для выделения хроматина ткань гомогенизируют, гомогенат фильтруют и подвергают дифференциальному центрифугированию. Выделенный хроматин может синтезировать РНК в присутствии трифосфатов четырех нуклеозидов РНК (гуанина, аденина, цитозина и урацила), а также РНК-полимеразы. Гибридизируя полученную РНК с депротенизированной протеазами ДНК, можно узнать, каким последовательностям она комплементарна. С помощью этого метода можно определить, какая доля ДНК транскрибируется и какая РНК на ней синтезируется.

Как правило, транскрибируется только небольшая фракция всей повторяющейся ДНК; большая часть ДНК, очевидно, недоступна для транскрипции из-за ее связи с гистонами и/или кислыми белками. Если удалить все гистоны и кислые белки, то транскрипционная активность остающейся «голой» ДНК

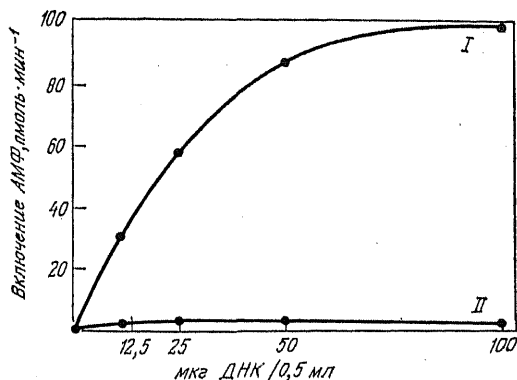


Рис. 13.7. Матричные активности ДНК (I) и нуклеогистона (II) из *Pisum sativum* (горох огородный). (J. Bonner, The Molecular Biology of Development, Clarendon Press, Oxford.)

ДНК и нуклеогистон использовали в качестве матриц в реакционной смеси, содержащей радиоактивную АТФ и нерадиоактивные ГТФ, ЦТФ и УТФ, а также необходимые кофакторы плюс РНК-полимеразу. О скорости синтеза РНК судили по включению радиоактивности в кислотонерастворимые продукты.

сильно увеличивается (рис. 13.7). При реконструкции хроматина из депротенизированной ДНК путем добавления к ней гистонов и кислых белков скорость транскрипции вновь снижается до исходного уровня, характерного для нативного хроматина. Если добавить только гистоны, транскрипция почти полностью подавляется, а если добавить также и кислые белки, то восстанавливается исходная матричная активность. Таким образом, представляется вероятным, что гистоны оказывают неспецифический маскирующий эффект, а присутствие кислых белков ослабляет это маскирующее влияние. Было высказано предположение, что гистоны, взаимодействуя с ДНК, вызывают ее суперспирализацию, в результате чего она приобретает компактную структуру и становится недоступной для РНК-полимеразы. Кислые белки могут предохранять ДНК от гистонов, и она становится более доступной для транскрипции.

Как мы уже говорили (с. 450), комплекс ДНК с гистонами в хроматине организован в частицы, называемые *нуклеосомами*. По некоторым данным, нуклеосомы в транскрибируемых участках генома находятся в ином состоянии, чем неактивные нуклеосомы, — они могут быть «открыты», или развернуты.

В интерфазном (покоящемся) ядре большая часть хроматина лишь слегка окрашивается цитологическими красителями, но там часто можно различить области, которые окрашиваются явно лучше. Этот хорошо окрашивающийся материал называют *гетерохроматином* в отличие от плохо окрашивающегося *эухроматина*. Полагают, что в области гетерохроматина ДНК оста-

ется скрученной (спирализованной) во время интерфазы, тогда как остальной хроматин деспирализуется. Имеются убедительные данные, что гены в гетерохроматине не активны. Так, половые X- и Y-хромосомы могут быть в зоне гетерохроматина в соматических клетках, и в этих случаях их гены не работают, но они активируются при дифференцировке гамет. Таким образом, в гетерохроматине, очевидно, инактивируются крупные блоки генов, а процесс спирализации и деспирализации хромосом, по-видимому, является способом грубой регуляции экспрессии генов.

До сих пор наша дискуссия опиралась на гипотезу, что дифференциальная активность генов при развитии может регулироваться на уровне транскрипции путем маскирования и демаскирования определенных участков генома, т. е. путем изменения матричной активности. Однако можно допустить и существование других механизмов регуляции транскрипции. Так, эукариоты содержат ряд РНК-полимераз с различными свойствами и субклеточной локализацией. У высших растений митохондрии и хлоропласты обладают особыми РНК-полимеразами, а в ядре имеются по меньшей мере два различных типа этих ферментов. РНК-полимеразы микроорганизмов являются сложными белками, состоящими из нескольких полипептидных цепей, называемых альфа-, бета- и сигма-цепями. Сигма-фактор узнает место инициации транскрипции на ДНК. У прокариот было идентифицировано несколько сигма-факторов, каждый из которых придает иную специфичность минимальному ферменту. Таким образом, избирательная регуляция транскрипции определенных участков генома у эукариот может в какой-то мере обеспечиваться специфичностью работы РНК-полимераз.

13.9. РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССИНГА ЯДЕРНОЙ РНК

Большинство гипотез регуляции экспрессии генов у эукариот основывается на модели оперона Жакоба и Моно, разработанной для регуляции экспрессии генов у бактерий. общепризнано, что дифференциальная активность генов у эукариот определяется избирательной транскрипцией определенных участков генома, так что в любой данной ткани одни гены активны, а другие нет. Возможно, это происходит вследствие избирательного маскирования и демаскирования различных областей генома, о которых мы говорили в предыдущем разделе. Однако недавно Бриттен и Дэвидсон предложили совсем другую модель регуляции активности генов, которая не требует избирательной активации или подавления структурных генов в различных тканях.

Бриттен и Дэвидсон обратили внимание на то, что в ядерной РНК (яРНК) присутствует большое количество уникальных

последовательностей, но только небольшая их фракция представлена в цитоплазме данной клетки в виде мРНК. Кроме того, если набор мРНК обычно специфичен для данной ткани, то эти последовательности, как правило, присутствуют в гетерогенной ядерной РНК в клетках всех типов. Это означает, что в ядре каждой дифференцированной клетки имеются не только все гены, когда-либо используемые в организме, но также и транскрипты всех или большинства из этих генов.

Большая часть гетерогенных ядерных РНК очень быстро обновляется; период ее полужизни в яйцах морского ежа равен примерно 20 мин. Бриттен и Дэвидсон высказали гипотезу, согласно которой экспрессия генов регулируется на этапе, когда определяется, какой из потенциальных предшественников мРНК сохранится, подвергнется процессингу и перейдет в цитоплазму. Предполагается, что деградация некоторых из синтезированных на структурных генах предшественников мРНК предотвращается образованием комплексов с РНК, транскрибированной на неструктурных генах. Эти неструктурные гены, очевидно, состоят из чередующихся уникальных последовательностей и повторов, комплементарных повторам транскриптов структурных генов. Таким образом, согласно этой модели, сохранение части мРНК в клетках любого данного типа зависит от образования специфических регуляторных последовательностей на неструктурных генах, но как достигается эта специфичность для каждого типа клеток, остается неясным.

Верна ли гипотеза Бриттена и Дэвидсона, покажет будущее, но работа, проведенная на растениях табака, соответствует гипотезе посттранскрипционной регуляции экспрессии генов. Так, только 75% последовательностей мРНК листьев содержится в полисомах стебля, но в ядерной РНК стебля имеются все мРНК, характерные для листьев табака. Таким образом, структурные гены листьев, неиспользуемые для синтеза белков стебля, транскрибируются в ядре стебля. Это говорит о том, что «посттранскрипционный процессинг, или механизм отбора, играет важную роль в регуляции экспрессии генов у растений» (Голдберг).

13.10. РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ НА УРОВНЕ ТРАНСЛЯЦИИ

Мы уже обсудили некоторые возможные пути регуляции экспрессии генов, которая может осуществляться путем маскирования и демаскирования ДНК (т. е. через изменение доступности матрицы) или путем регуляции процессинга ядерной РНК при образовании мРНК. Однако регуляция может происходить также на уровне трансляции и даже на более поздних (посттрансляционных) стадиях.

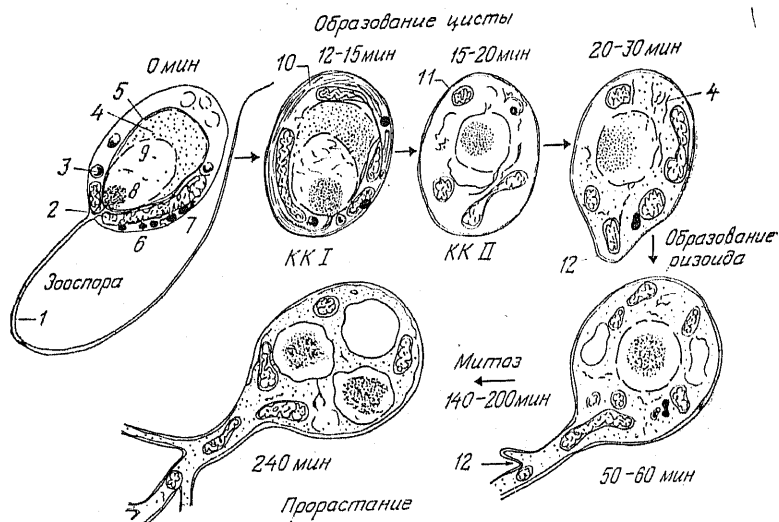


Рис. 13.8. Схема прорастания зооспоры и раннего развития *Blastocladiella emersonii*. (C. J. Leaver, J. S. Lovett, Perspectives in Experimental Botany, ed. N. Sunderland, Pergamon Press, Oxford, 229—311, 1976.)

1 — жгутик; 2 — базальное тело; 3 — гамма-частицы; 4 — рибосомы; 5 — ядерная шапочка; 6 — липидные гранулы; 7 — митохондрия; 8 — ядрышко; 9 — ядро; 10 — аксонема жгутика; 11 — клеточная стенка; 12 — ризоид; КК I — круглая клетка I; КК II — круглая клетка II.

Хороший пример трансляционной регуляции можно наблюдать у водного гриба *Blastocladiella emersonii*. Зооспоры этого гриба лишены клеточной стенки и снабжены одним, расположенным сзади жгутиком. Ядро с одной стороны окружено ядерной шапочкой, содержащей большое количество зрелых рибосом. Зооспоры высвобождаются в воду и прикрепляются к твердой поверхности, где они очень ненадолго превращаются в цисты. В этот период их структура быстро и радикально изменяется. Ядерная шапочка разрушается, высвобождая рибосомы, которые распределяются по всей клетке. Примерно через 10 мин появляется маленькая ростковая трубочка, что свидетельствует о начале прорастания (рис. 13.8).

Результаты изучения синтеза белка и нуклеиновых кислот показали, что синтез РНК начинается значительно позже (только спустя 40—45 мин после образования цист), а затем еще через 30—40 мин начинается синтез белка и потом синтез ДНК. Таким образом, прорастание, очевидно, происходит без синтеза РНК и белка. Кроме того, ингибиторы синтеза РНК и белка не предотвращают образование цист и прорастание, так что, по-видимому, необходимые рибосомная, транспортная и информационная РНК содержатся в зооспорах до образования цист, и

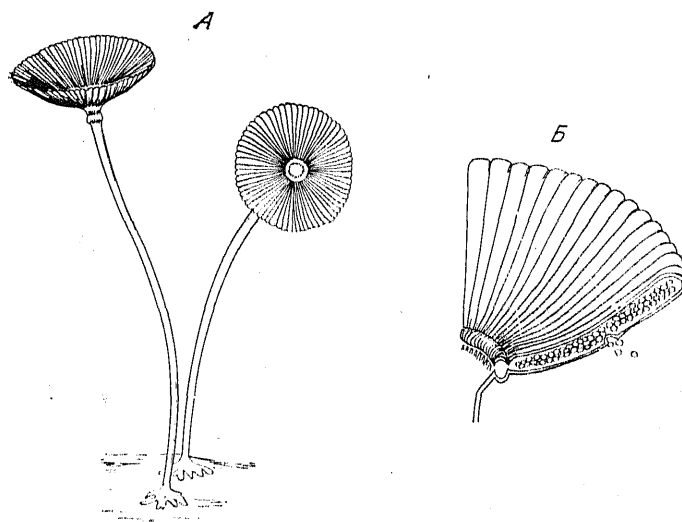


Рис. 13.9. А. Взрослые растения *Acetabularia mediterranea*. Б. Срез через шапочку, на котором видно образование цист.

на ранних стадиях прорастания можно наблюдать образование полисом. Очевидно, в момент высвобождения зооспор в них имеется достаточный запас белка и РНК, которого хватает для образования цист и начала прорастания, но для более поздних стадий прорастания белковый синтез необходим.

Очень поучительны были исследования, проведенные на морской водоросли *Acetabularia*. Они не только продемонстрировали трансляционную регуляцию экспрессии генов, но и показали сложность проявляющегося при этом взаимодействия ядра и цитоплазмы. *Acetabularia* представляет собой одну гигантскую клетку, состоящую из ризоида и цилиндрической ножки (рис. 13.9). Ножка растет в длину апикальным концом, и затем на этом конце образуется «шапочка», в которой формируется большое количество цист. После высвобождения цист из них развиваются изогаметы. Форма и морфология шапочки различна у разных видов. *Acetabularia* имеет крупную центральную вакуоль, окруженную слоем цитоплазмы. Единственное ядро находится в цитоплазме кончика ризоида водоросли.

Благодаря большому размеру клетки можно удалить из нее ядро и пересадить его в другую особь того же или иного вида. Если ядро пересадить в лишенную ядра клетку другого вида, то образующаяся затем шапочка обладает свойствами того вида, от которого взято ядро. Один вид *Acetabularia* можно прививать на другой. Для этого апикальную, безъядерную часть

одного вида водоросли насаживают на базальную, содержащую ядро часть другого вида. Образующаяся при этом шапочка регенерирующего растения обладает промежуточными свойствами, но если ее удалить, то вновь образующаяся шапочка типична для того вида, которому принадлежит ядро.

Если отрезать ножку над ризоидом, то ризоид регенерирует новую ножку и шапочку. Однако регенерировать могут и лишённые ядра части. Например, если молодую ножку, на которой еще нет шапочки, отделить от ризоида, так что в ней не будет ядра, то она еще долгое время останется живой и в конце концов образует шапочку.

Эти результаты показывают, что развитие в конечном счете находится под контролем ядра, но, даже если ядро удалить, оно еще долгое время будет оказывать влияние на цитоплазму, которая может продолжить и завершить морфогенез. На основе полученных данных представляется очевидным, что 1) вся информация, необходимая для образования шапочки, попадает из ядра в цитоплазму задолго до нормального образования шапочки; 2) информация для образования шапочки может долго находиться в цитоплазме без реализации; 3) информация для образования шапочки очень стабильна.

Эти выводы наводят на мысль, что ядро образует стабильную информационную РНК, которая длительное время сохраняется в цитоплазме. Такое предположение подтверждается многими данными, в том числе следующими наблюдениями:

1) Удаление ядра приводит к немедленному прекращению синтеза РНК, но общий синтез белка продолжается без ядра еще много месяцев.

2) Подавление синтеза РНК, например, актиномицином D, ингибирующим образование мРНК, не препятствует регенерации шапочки в безъядерных фрагментах (которые, по-видимому, уже содержат стабильную мРНК), но подавляет регенерацию шапочки у фрагментов, содержащих ядро, которое, очевидно, зависит от синтеза новой мРНК.

3) Синтез белка происходит в лишённых ядра фрагментах ножки. Ингибиторы белкового синтеза, такие, как пуромицин и циклогексимид, предотвращают образование шапочки как у содержащих ядро, так и у безъядерных ножек.

Эти и другие косвенные данные говорят о том, что морфогенез у *Acetabularia* зависит от образования стабильной долгоживущей мРНК, но эта гипотеза еще не получила подтверждения в прямых экспериментах. Информация, поступающая из ядра в цитоплазму, очевидно, может не реализовываться в течение нескольких недель, и время образования шапочки определяется событиями, происходящими в цитоплазме. Следовательно, регуляция экспрессии генов у *Acetabularia*, по-видимому, осуществляется на уровне трансляции.

Мы также знаем, что синтез белка на самых ранних стадиях прорастания семян зависит от ранее синтезированных матриц (с. 418). Таким образом, хотя представляется вероятным, что развитие связано с образованием специфических мРНК, их трансляция не обязательно происходит немедленно после высвобождения в цитоплазму. Процесс трансляции является еще одним этапом, от которого зависит *время* экспрессии генов.

Регуляция экспрессии генов может также происходить и на посттрансляционной стадии, например при регуляции активности ферментов путем модификации их структуры (аллостерический эффект; с. 461) или другими способами. Некоторые ферменты содержатся в семенах в неактивной форме (зимогены), но при соответствующей обработке могут переходить в активную форму. Так, из семян гороха были выделены белковые гранулы, из которых после обработки протеолитическим ферментом можно получить глюкозидазу; кроме того, в результате обработки фракции частиц из семян салата-латука протеолитическим ферментом трипсином сильно увеличивается активность фосфатазы.

13.11. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЯДРА И ЦИТОПЛАЗМЫ В ПРОЦЕССЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

В исследованиях, проведенных на содержащих ядро и безъядерных фрагментах клетки *Acetabularia*, были получены ценные данные, касающиеся природы взаимодействия ядра и цитоплазмы во время развития растения; эти данные позволили понять, каким образом события, происходящие в цитоплазме, зависят от факторов (возможно, мРНК), поступающих из ядра. Однако цитоплазма, по некоторым данным, также может влиять на поведение ядра. Так, обычно перед формированием гамет происходит деление ядра с образованием большого числа дочерних ядер, но, если шапочку отрезать, ядро не делится до тех пор, пока не образуется новая шапочка. Механизм цитоплазматической регуляции деления ядра неизвестен.

Явление неэквивалентного (полярного) деления также свидетельствует о сильном влиянии цитоплазмы на процесс дифференцировки, который в свою очередь должен быть связан с дифференциальной активностью генов. Ранее (гл. 1) было рассмотрено несколько примеров, когда два дочерних ядра, образующиеся в результате асимметричного деления, затем совершенно по-разному дифференцируются, как это бывает в случае образования материнской клетки замыкающих клеток устьица или пыльцевых зерен. В таких случаях в цитоплазме родительской клетки до митоза возникают какие-то различия, и ось митотического веретена располагается так, что два дочерних ядра

попадают в различное цитоплазматическое окружение. Если случайно нарушится положение оси митотического веретена и новая клеточная перегородка разделит цитоплазму на симметричные части, то дочерние клетки будут дифференцироваться по одному и тому же типу.

Мы не располагаем прямыми данными относительно того, какие компоненты цитоплазмы неравномерно распределяются между дочерними клетками и влияют на их последующую дифференцировку. Однако было проведено подробное исследование изменений, происходящих в цитоплазме оплодотворенных яйцеклеток *Fucus* перед первым полярным делением; в результате этого деления возникают две дочерние клетки, одна из которых дает начало таллому, а другая — будущему ризоиду (с. 34). Если оплодотворенные яйцеклетки осветить с одной стороны, то на затененном конце клетки примерно через 14 ч после оплодотворения начинает образовываться выступ, и митоз происходит таким образом, что ось веретена располагается параллельно направлению падающего света. Изучение ультраструктурных изменений, происходящих после одностороннего освещения, показало, что через 11—14 ч после оплодотворения митохондрии, рибосомы и некоторые типы пузырьков собираются в большом количестве в той половине клетки, которая в будущем даст начало ризоиду. В результате цитоплазма этой половины клетки становится плотнее, чем другой ее половины. Примерно через 12 ч после оплодотворения (до появления каких-либо видимых признаков ризоидного выступа) поверхность ядра поляризуется, и на ней появляются пальцевидные выступы, направленные к месту будущего ризоида. Клеточная стенка в месте возникновения выступа ризоида также изменяется: там откладывается серусодержащий полисахарид фукоидин.

Было показано, что при одностороннем освещении зигота *Fucus* электрически поляризуется, причем затененная сторона становится электроотрицательной по отношению к освещенной стороне; в результате этого через яйцеклетку проходит электрический ток, причем ионы кальция и натрия поступают в ризоидный конец яйцеклетки, а ионы хлора — со стороны будущего таллома. Эта разница электрического потенциала может также привести к электрофоретическому перемещению других молекул, распределение которых в яйцеклетке становится полярным и может повлиять на характер дифференцировки.

Такого рода исследования дают более подробные сведения о типе изменений, происходящих в цитоплазме перед асимметричным делением, что в конечном счете поможет понять, каким образом состояние цитоплазмы регулирует экспрессию тех или иных генов ядра.

13.12. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В ЦЕЛОМ РАСТЕНИИ

Из предыдущего изложения очевидно, что мы достигли значительных успехов в понимании экспрессии генов у эукариот. Будем надеяться, что такие же успехи будут сопутствовать нам и в дальнейших исследованиях, так что в обозримом будущем мы постигнем природу механизма, регулирующего экспрессию генов. Это несомненно приблизит нас к пониманию как общих, так и частных аспектов развития, но сейчас сложно приложить наши неполные знания к решению центральной проблемы развития, а именно, каким образом происходит экспрессия соответствующих генов в соответствующее время и в соответствующих клетках. Следовательно, пока к общим аспектам развития можно применить только «феноменологический» подход, и хотя такой подход не вполне удовлетворителен, правда, пока и неизбежен, все же он полезен, так как расширяет границы нашего понимания процессов развития.

Мы знаем, что развитие цветкового растения состоит из ряда последовательных стадий. Оно начинается с дифференцировки корня и побега зародыша, затем появляются зачатки органов и, наконец, дифференцируются ткани внутри индивидуальных органов. На этот тип изменений накладываются такие крупные события развития, как зацветание или переход к покою. Строгий порядок смены этих последовательных стадий относится к одной из самых поразительных черт развития.

Это явление хорошо иллюстрируется на примере развития цветка, когда наблюдается правильная последовательность событий не только при возникновении различных частей цветка (околоцветника, тычинок, плодолистиков), но и при развитии каждой из этих частей в отдельности.

Переход от одной стадии развития к следующей, по-видимому, связан с изменениями в экспрессии генов. При этом определенные, ранее экспрессировавшиеся гены активируются, а другие становятся или остаются неактивными. Прямые данные о смене активности генов получены для насекомых. Хорошо известно, что в клетках некоторых органов *Drosophila* и ряда других мух имеются «гигантские» хромосомы, образованные путем повторной репликации цепей ДНК, не сопровождающейся делением ядра. Таким образом, каждая из этих гигантских хромосом состоит из большого числа параллельных нитей ДНК, так что соответствующие области различных нитей расположены друг против друга, и вся хромосома имеет характерную поперечную исчерченность. Каждый диск, по-видимому, соответствует одному гену или оперону. На определенных стадиях развития насекомого один или более дисков разбухают, образуя «пуфы», предположительно состоящие из РНК. Разбухание ди-

ска, вероятно, указывает на то, что данный ген в данное время активен. В различных тканях, в различные периоды развития наблюдаются свои специфические картины образования пухов. Кроме того, при введении в личинку гормона линьки экдизона происходит быстрое изменение картины распределения пухов, связанное с вступлением насекомого в новую фазу развития. Мы не располагаем аналогичными прямыми данными о смене активности генов при развитии растений, но а priori можно с большой вероятностью сказать, что она существует.

Строгая последовательность изменений, происходящих при развитии таких органов, как лист или цветок, позволяет предположить, что развитие представляет собой своеобразную «цепную реакцию», в которой завершение одной стадии приводит в действие следующую. В результате если развитие пошло по какому-то определенному пути, то все последующие стадии наступают неизбежно. Такого типа схема была предложена для объяснения развития цветка. Было высказано предположение, что после перехода к цветению в первом примордии активируется комплекс генов *A*, и эти гены синтезируют индуктор *X*, который поступает к следующему примордию, активируя в нем комплекс генов *B*, и так далее от одной части цветка к другой. Эта гипотеза постулирует существование «ближних посредников» или «гормонов», перемещающихся на короткие расстояния между клетками. Однако такие вещества пока не были обнаружены.

13.13. ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЕ СОСТОЯНИЕ

Процессы, происходящие во время дифференцировки клеток, в конце концов завершаются, и клетка достигает стационарного состояния зрелости, в котором непрерывно поддерживается ее метаболизм (конечно, за исключением таких клеток, как мертвые клетки ксилемы). Видимыми признаками дифференцированного состояния являются различия в строении клеточных стенок и некоторых цитоплазматических органелл, таких, как пластиды. Если вспомнить, что ряд тканей специфически приспособлен к выполнению определенных функций (фотосинтез, секреция или запасание веществ), то становится очевидным, что дифференцировка должна также затрагивать некоторые стороны метаболизма. Такая дифференцировка почти наверняка должна быть связана с различиями в синтезе ферментов, что в свою очередь свидетельствует о сохранении между клетками различий в активности генов даже в зрелом состоянии.

Многие основные пути метаболизма, возможно, используются всеми живыми клетками растений. Примером могут служить реакции распада углеводов в процессе дыхания. Вместе с тем имеется много данных о различиях, существующих в биосинтетических способностях разных тканей. Например, обнаруже-

но, что для роста в стерильной культуре изолированных корней многих видов необходимы некоторые витамины, в том числе тиамин, пиридоксин и никотиновая кислота. Очевидно, что в интактном растении эти витамины синтезируются в побеге и поступают в корни. Точно так же для поддержания клеточного деления в культуре каллуса из некоторых растительных тканей, в том числе из сердцевинки табака, в культуральную среду необходимо добавлять ауксин и цитокинин (с. 236). Очевидно, что клетки сердцевинки табака не могут синтезировать ауксин и цитокинин и поэтому нуждаются в экзогенных гормонах. Однако неспособность клеток сердцевинки синтезировать эти два гормона не означает, что они навсегда так и останутся неспособными синтезировать их. Об этом свидетельствует тот факт, что такие нуждающиеся в цитокиnine каллусы могут «привыкать» (с. 237) и становиться независимыми от добавления цитокинина.

Неспособность корней синтезировать некоторые витамины и тканей сердцевинки табака синтезировать ауксины и цитокинины является достаточно сильным доводом в пользу того, что дифференцировка клеток связана с активацией одних генов и подавлением других. Было бы интересно узнать, могут ли меристематические клетки верхушки стебля табака синтезировать цитокинины. Если это так, то очевидно, что один из процессов, происходящих при дифференцировке клеток стебля, — подавление активности ферментов, ответственных за синтез ауксина и цитокинина. Действительно, такими изменениями в биосинтетической способности можно объяснить переход от деления клеток к их растяжению, происходящий в апикальных участках как стебля, так и корня.

Мы не знаем, как поддерживается это устойчивое различие в биосинтетической способности, но Жакоб и Моно показали,

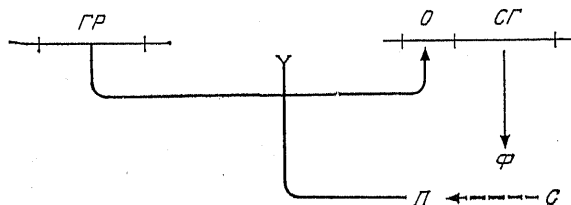


Рис. 13.10. Гипотетическая схема регуляции синтеза фермента (Ф), когда индуктором является продукт активности регулируемого фермента. (F. Jacob, J. Monod, *Cytodifferentiation and Molecular Synthesis* (ed. M. Locke), Academic Press, New York — London, 1963.)

Синтез фермента Ф прекращается при блокировании его структурного гена (СГ) репрессором, синтезируемым геном-регулятором (ГР). Продукт реакции (П), катализируемой ферментом Ф, является индуктором системы инактивации репрессора. О — оператор; С — субстрат.

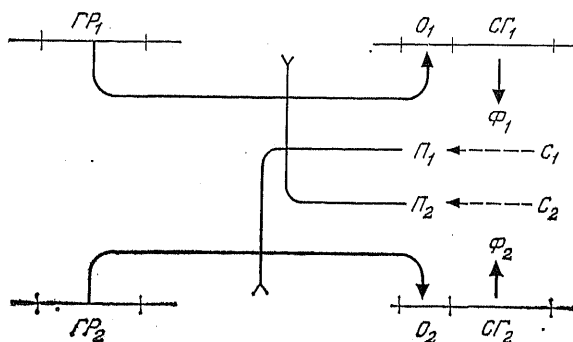


Рис. 13.11. Схема регуляции, когда продукт активности одного фермента является индуктором для другого фермента (F. Jacob, J. Monod, *Cytodifferentiation and Molecular Synthesis* (ed. M. Locke, Academic Press, New York, London, 1963.)

Структурный ген (CГ₁) для фермента Φ_1 блокируется репрессором, синтезируемым геном-регулятором (ГР₁). Структурный ген (CГ₂) для второго фермента Φ_2 блокируется другим репрессором, синтезируемым геном-регулятором (ГР₂). Продукт реакции (П₁), катализируемой ферментом Φ_1 , является индуктором синтеза фермента Φ_2 , O — оператор; C₁, C₂ — субстраты.

что несложно построить «модельную схему», основанную на концепции репрессии генов у бактерий; эта схема могла бы объяснить, каким образом некоторые гены постоянно включены. Одна очень простая схема изображена на рис. 13.10. В этом случае индуктором является не субстрат, а продукт реакции, регулируемой ферментом. Известно, что такая система имеется у бактерий. В отсутствие экзогенного индуктора фермент не образуется, и его можно обнаружить, только если он уже был в клетке, но временный контакт с индуктором приводит к длительному выключению синтеза репрессора, по крайней мере до тех пор, пока в системе присутствует субстрат или продукт. Предположим, что оперон на рис. 13.10 ответствен за биосинтез какого-то гормона, например цитокинина или гиббереллина, и что в покоем семени этот оперон заблокирован. Тогда однократное воздействие экзогенным гормоном активирует оперон, и начиная с этого момента проросток сам будет способен к синтезу гормона. Другим примером является стимуляция синтеза эндогенного ауксина однократным опрыскиванием вызывающихся плодов ИУК (с. 199). Очень просто построить другую модель, которая объясняла бы постоянное подавление синтеза некоторых ферментов. Так, в модели, изображенной на рис. 13.11, продукт активности одного фермента вызывает синтез другого фермента, так что два фермента взаимозависимы. Один из них не может синтезироваться в отсутствие другого, и подавление одного фермента или отсутствие его субстрата (да-

же временное) приведет к устойчивому подавлению обоих ферментов.

Пока мы не располагаем данными об участии такого типа механизмов в детерминации и дифференцировке, но эти схемы показывают, что в рамках концепции о механизмах репрессии у бактерий можно построить модели, объясняющие наблюдаемые факты.

13.14. ДЕТЕРМИНАЦИЯ ПРИ РАЗВИТИИ РАСТЕНИЙ

Последовательные стадии развития можно рассматривать как процесс, при котором в различные критические точки времени и пространства происходит переключение на альтернативные пути дальнейшего развития. Это переключение может наблюдаться на клеточном уровне, например, когда две дочерние клетки, возникающие в результате неэквивалентного деления, дифференцируются по-разному; она может также происходить при дифференцировке органов или даже апекса побега как целого, например при переходе от вегетативной фазы развития к цветению. Далее мы уже видели, что если орган, такой, как зачаток листа, прошел определенную стадию развития, то он необратимо «детерминируется» как лист (в отличие от почки) и обычно не может превратиться ни в одну другую структуру (с. 53—54).

Такое последовательное вступление различных частей развивающегося организма на специфические пути дифференцировки называют «канализацией развития». Так, развитие зародыша включает канализацию по нескольким основным путям развития, в результате чего появляются области корня и побега. С появлением организованного апекса побега возникает основа для заложения различных органов (лист, почка, стебель), которая продолжается во время всей последующей вегетативной фазы развития.

Коль скоро группа клеток вступила на какой-то путь развития, она обычно следует по этому «нормальному» пути до полного его завершения, и крайне редко клетки возвращаются к более ранней стадии развития или переходят на какой-либо другой путь. Так, листовые примордии не станут почками или стеблями, хотя иногда при формировании цветка могут возникать аномалии развития, например возврат к вегетативной верхушке, но такие случаи сравнительно редки, поэтому считают, что на определенных критических стадиях те или иные части организма становятся «детерминированными» в отношении их дальнейшей дифференцировки. Мы уже приводили пример такой детерминации при развитии листовых примордиев (рис. 2.12).

Развитие любого органа, будь то орган животного или растения, — это процесс, включающий серию строго последовательных изменений, следующих друг за другом без длительных пе-

прерывов. Однако для насекомых известны случаи, когда группы клеток детерминируются на ранних стадиях развития, но эта детерминация проявляется только спустя много поколений клеток. Так, у *Drosophila* «имагинальные диски», предназначенные для образования различных частей тела взрослой мухи, закладываются на очень ранней личиночной стадии, но они уже детерминированы и могут сохранять состояние детерминации на протяжении многих клеточных делений.

Мы не располагаем такими же примерами для растений, но данные о существовании детерминации растительных клеток и тканей имеются. Наиболее ярко детерминация проявляется у апексов побега. Само предположение о детерминации меристематических клеток может показаться парадоксальным, поскольку именно эти клетки обычно считают недифференцированными и не вступившими на какой-либо путь развития. Однако мы уже рассматривали два или три примера детерминации апикальных меристем стебля, а именно яровизацию и смену фаз у древесных растений. Как мы уже видели, при яровизации зародышей ржи происходят внутренние изменения в потенциях развивающихся клеток меристемы стебля, так что они становятся способными к цветению. При полной яровизации зародышей ржи все клетки, произошедшие из апикальной меристемы, становятся яровизированными, и это состояние, очевидно, передается от одного поколения клеток к другому без «разбавления» (с. 361). Хотя яровизированное состояние очень стабильно, новые зародыши, образованные яровизированным растением, уже не яровизированы. Следовательно, при нормальном гаметогенезе должна происходить деяровизация.

Еще одним примером детерминации верхушечных меристем является «смена фаз» у древесных растений (с. 381). Смена фаз, несомненно, связана с внутренними изменениями меристематических клеток, так как если выращивать в стерильной культуре на одинаковой питательной среде каллусы из тканей ювенильных и взрослых побегов плюща, то эти культуры различаются между собой. Каллус из ювенильных побегов растет быстрее и образует больше корней, чем каллус из взрослых побегов. Очевидно, здесь мы имеем дело с двумя сравнительно стабильными альтернативными состояниями детерминации, которые не связаны с генетическими изменениями (поскольку на взрослых побегах образуются семена, из которых развиваются ювенильные проростки), но которые могут передаваться от одного поколения клеток к другому без утраты детерминации.

Еще одним примером устойчивых различий в апикальных меристемах побега являются различия между гаметофитом и спорофитом у папоротников и других низших растений. Обычно гаметофит гаплоиден, а спорофит диплоиден, но различия в морфогенезе и жизненном цикле двух поколений нельзя припи-

сать разнице в плоидности, так как экспериментально можно получить диплоидные или тетраплоидные гаметофиты и гаплоидные спорофиты. Эти различия должны зависеть от активности различных участков генома при этих различных состояниях организма.

13.14.1. Природа изменений, сопровождающих детерминацию

Мы мало знаем о том, с какими изменениями на молекулярном уровне связана детерминация. Представляется вероятным, что мы здесь имеем дело со стабильными состояниями генной экспрессии, которые не изменяются даже после клеточного деления. Трудно представить себе, каким образом различия в активности генов могут сохраняться в ходе репликации ДНК и последующего цитокинеза, но передача дифференцированного состояния через повторные клеточные деления хорошо установлена для животных клеток.

Несмотря на скудость наших знаний относительно молекулярной основы детерминации, мы можем все же сказать, что между явлениями детерминации и явлением «привыкания» растительных клеток в стерильной культуре (с. 237) существует близкая аналогия. Известно, что в среду для культивирования каллуса из тканей сердцевины табака обычно необходимо добавлять экзогенные ИУК и цитокинины. Следовательно, клетки сердцевины табака, по-видимому, или неспособны к синтезу ауксина и цитокинина и поэтому нуждаются в их добавке, или, возможно, они очень быстро катаболизируют эти ростовые вещества. Вместе с тем исходно гетеротрофные по отношению к ауксинам и цитокининам культуры могут в ходе культивирования стать «привыкшими» и сами удовлетворять свои потребности в ростовых веществах того или иного типа. Таким образом, культура сердцевины табака, по-видимому, может существовать в устойчивых альтернативных состояниях, очень напоминая этим детерминированные ткани. Важно, что клоны «привыкших» тканей, полученные из одной клетки, все еще остаются привыкшими; следовательно, возникшие изменения являются свойствами индивидуальных клеток.

Возникает вопрос о природе изменений, связанных с привыканием. Представляется вероятным, что это — изменения в экспрессии генов, и, следовательно, они носят «эпигенетический» характер, но не исключено, что они могут быть связаны и с мутациями. Мейнц с сотрудниками исследовали эту проблему на штамме каллуса табака, который быстро привыкает на среде, содержащей кинетин, или на основной среде, если его культивировать при 35 °C. Эти авторы обнаружили, что скорость привыкания в расчете на поколение клеток по крайней мере в 100—1000 раз превышает обычную скорость соматических мутаций у табака. В следующих опытах из привыкшего каллуса получа-

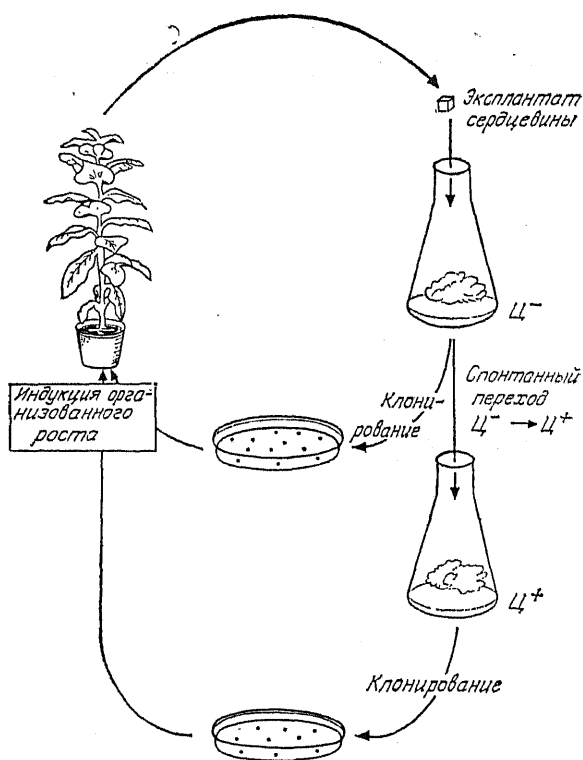


Рис. 13.12. Схема по снятию состояния привыкания. (F. Meins, 1977.)
Ц⁻ — ткани, автотрофные по отношению к цитокинину, способные к образованию факторов клеточного деления.

ли целые растения табака, и оказалось, что каллус из сердцевинных таких растений уже не был привыкшим (рис. 13.12). Это показывает, что привыкание утрачивается во время регенерации и последующей дифференцировки. Такая обратимость опять-таки не характерна для тканей, претерпевших мутации. Привыкание не влияет на тотипотентность привыкших клеток.

Как мы уже видели (с. 474), несложно на основе системы регуляции активности генов у бактерий построить модель, объясняющую устойчивость дифференцированного состояния, при котором постоянно экспрессируются определенные гены. Так, выше мы говорили о том, что экзогенный гормон, такой, как цитокинин или гиббереллин, может, по-видимому, активировать оперон для биосинтеза эндогенного гормона. Некоторые данные в пользу такой гипотезы были получены для привыкшего каллуса табака. Привыкшие ткани выращивали при 16°C, когда синтез эндогенного цитокинина подавлен. В одной части куль-

тур поддерживалась оптимальная концентрация кинетина, а в другой — низкая концентрация кинетина, достаточная лишь для поддержания роста. Если затем каллусы обоих вариантов переносили в среду при 25 °С, то те из них, которые ранее держали при 16 °С на низкой концентрации кинетина, теперь нуждались в его добавке, а каллусы, получавшие при 16 °С более высокие концентрации кинетина, все еще оставались привычными. Эти наблюдения соответствуют гипотезе, согласно которой состояние привыкания поддерживается по схеме «положительной обратной связи» с участием таких факторов клеточного деления, как цитокинины. Иными словами, гипотеза предполагает, что детерминированное состояние поддерживается продуктами, индуцирующими свой собственный синтез (или подавляющими собственное разрушение).

13.14.2. Тотипотентность и детерминация

Способность соматических клеток многих видов растений регенерировать в целые растения при использовании соответствующих методов стерильной культуры в настоящее время привлекает к себе особое внимание, в частности, в связи с большими потенциальными возможностями практического использования (гл. 6). Поэтому большое значение придается тотипотентным свойствам многих растительных клеток, причем на первый взгляд кажется, что концепции детерминации и тотипотентности противоречат друг другу. Однако ясно, что детерминация у растительных клеток выражена не столь сильно, как у многих животных клеток. Действительно, у животных клетки развивающегося зародыша утрачивают способность к регенерации целого животного на какой-то ранней стадии и после прохождения этой стадии изменения, очевидно, становятся необратимыми. В то же время детерминация растительных клеток часто обратима. Так, «естественная» регенерация в растительных тканях, касается ли она придаточных корней, почек или целых растений, обычно начинается в клетках (таких, как клетки перicycle), которые уже были вакуолизированы и дифференцированы, и, следовательно, перед регенерацией должна произойти дедифференцировка. Точно также экспериментальная регенерация корней, почек или адвентивных зародышей в каллусе или суспензионной культуре связана с дедифференцировкой в начале культивирования. Термин «дедифференцировка» обычно употребляют в тех случаях, когда вакуолизированные клетки, переставшие делиться, возобновляют меристематическую активность; однако этот термин также подразумевает и «перепрограммирование» экспрессии генов у этих клеток. Некоторые каллусы сохраняют часть свойств дифференцированной ткани, из которой они образовались (например, каллус из ювенильно-

го *Hedera* сохраняет способность к регенерации корней; с. 476). Этот факт говорит о том, что «перепрограммирование» может быть неполным, и каллус еще до некоторой степени «детерминирован». Итак, возобновление меристематической активности при образовании каллуса не обязательно приводит к полному перепрограммированию его клеток, хотя несомненно, что в большинстве случаев такое перепрограммирование очень значительно.

Если мы правы в своем заключении, что дедифференцировка и перепрограммирование в значительной мере снимают предшествующее состояние избирательного маскирования генома, то это разрешает кажущееся противоречие между концепциями детерминации и тотипотентности. В свете этого предположения, по-видимому, не существует никакого противоречия между предполагаемым состоянием детерминации апексов стебля и корня и образованием придаточных корней и почек из взрослых тканей соответственно стеблей и корней.

13.14.3. Различия в детерминации верхушки побега и кончика корня

В связи с рассмотренными выше данными о детерминации апексов побегов (с. 475—476) возникает вопрос, какие различия между апексами побегов и кончиками корней отражают различия в детерминации этих двух структур?

Мы уже видели, что, прежде чем в зародыше установится полярность (т. е. определится побеговый и корневой концы), происходит неэквивалентное деление зиготы. Таким образом, основное разделение тела растения на корень и побег закладывается на самых ранних стадиях развития. Коль скоро меристемы побега и корня образовались, они остаются очень стабильными структурами, и крайне редко меристему побега можно превратить в корневую меристему и наоборот. Более того, стабильность корневых меристем — это внутренне присущее свойство самих корней, поскольку изолированные корни томатов и других видов можно многие годы сохранять в стерильной культуре без появления каких-либо почек; правда, они нуждаются в добавке тиамина и других витаминов, обычно поступающих из побегов интактного растения.

Таким образом, апексы побега и корня ведут себя так, как если бы они были детерминированы. На первый взгляд это противоречит общепринятому представлению, что клетки меристем побега и корня недифференцированы и что различные типы дифференцировки этих двух органов определяются структурой и организацией самих меристем.

Также широко распространено мнение, что апекс является самоорганизующейся структурой в растении и что тип диффе-

ренцировки в апексе побега определяется свойствами самого апекса и не зависит от влияния более старых дифференцированных тканей. Однако эти две концепции (отсутствие дифференцировки клеток промеристемы и независимость от влияния более старых тканей), по-видимому, несовместимы. Если мы примем обе эти концепции, тогда различные свойства двух типов апексов должны зависеть только от их различной структуры и организации; в этом случае трудно понять, каким образом подобное различие может сохраняться так стойко, что превращение корневого апекса в стеблевой и наоборот происходит в высшей степени редко, а быть может, и вообще не происходит. Кроме того, если свойства апикальных меристем зависят только от различий в их клеточной структуре и организации, то трудно понять, как из ткани неорганизованного каллуса могут де novo возникать адвентивные почки и придаточные корни.

Логически можно представить себе только две альтернативные гипотезы, объясняющие стабильность стеблевых и корневых апексов и сохранение различий между ними: 1) меристемы полностью не дифференцированы, и их дальнейшее развитие в клетки побега или корня зависит от влияния более старых, частично или полностью дифференцированных клеток, и 2) клетки меристемы *наследственно* запрограммированы стать клетками корня или побега, а не полностью недетерминированы; в таком случае различное строение стеблевых и корневых апексов определяется наследственными различиями в их клетках. Если встать на такую точку зрения, то меристематические клетки являются уже специализированными клетками, подобно тому как специализированы гаметы.

Рассмотрим сначала возможность того, что на меристематические клетки влияют более старые ткани. Мы уже знаем, что у некоторых видов переход стеблевого апекса от вегетативного к генеративному состоянию регулируется факторами, поступающими из взрослых листьев. Возможно, что на активность верхушечных меристем сильно влияют эндогенные фитогормоны. Так, мы уже видели, что высокие концентрации ауксина стимулируют образование корней. Это проявляется как в образовании придаточных корней на стеблях, так и в корнеобразовании в культуре каллуса из сердцевины табака, где при высоком отношении ауксин/цитокинин образуются корни, а при высоком отношении цитокинин/ауксин — стеблевые почки. Вполне возможно, что после заложения корней под влиянием высокого отношения ауксин/цитокинин для *сохранения* структуры и организации кончика корня необходим постоянный приток ауксина из соседних тканей, поскольку сейчас твердо установлено, что в кончике корня ИУК движется акропетально, т. е. от более старых тканей по направлению к меристеме. Таким образом, создается впечатление, что дифференцирующиеся или взрослые

ткани действительно являются источником ауксина для корневой меристемы.

Поскольку при высоком отношении цитокинин/ауксин в некоторых культурах каллуса возникают стеблевые почки, возможно, что заложение и рост почек зависят от поступления цитокининов из других частей растения. В самом деле, согласно некоторым данным, и ауксины, и цитокинины поступают в конус нарастания апекса побега из молодых, растягивающихся листьев. Так, можно вырастить целое растение из изолированного сегмента меристемы высотой менее 0,1 мм, если поместить этот сегмент на простую питательную среду, к которой добавить всего лишь один гормон, 3-индолилуксусную кислоту (ИУК). Работа, проведенная на *Coleus blumei*, показала, что если эксплантат состоит только из верхушечной меристемы и двух или более пар примордиальных листьев, то можно совсем не вносить в среду гормоны. Но если в эксплантате не было листовых примордиев, то добавление ИУК оказывалось важным фактором. В опытах на изолированных верхушечных меристемах *Dianthus caryophyllus* было показано, что хотя на среде, содержащей только кинетин, из некоторых конусов нарастания образуются целые растения, вероятность этого увеличивается, если помимо кинетина вносить также и ИУК. Если же эксплантаты содержали две пары примордиальных и одну пару растягивающихся листьев, то они продолжали развиваться без добавления в среду ростовых веществ. Следовательно, для развития апикальной меристемы стебля некоторых видов необходимо поступление ауксина из растягивающихся листьев, а у других видов из таких листьев поступает также и цитокинин.

Возможно, что регуляция гомеостаза корневой и стеблевой меристем зависит от постоянного притока фитогормонов из соседних тканей. В таком случае именно в этих соседних взрослых тканях, синтезирующих и поставляющих гормоны, «базируется» стабильность апикальных меристем. Другая возможность заключается в том, что меристематические клетки апекса побега и кончика корня детерминированы к развитию соответственно в побег и корень, т. е. у них возникают *внутренние* различия в активности генов, практически независимые от их клеточного окружения. Такое предположение противоречит современному представлению о меристематических клетках как о полностью недетерминированных в отношении их будущего развития, но мы уже видели при знакомстве с явлением смены фаз, что апекс стебля может в этом случае существовать в двух альтернативных, но устойчивых состояниях (ювенильное и взрослое). Поскольку хорошо известно, что ткани каллусов, возникающих из ювенильных и взрослых побегов, обладают внутренними различиями, даже если их выращивать изолированно в стерильной культуре (с. 476), то возможно, что раз-

личия в организации и структуре верхушек ювенильных и взрослых побегов являются результатом внутренних «детерминированных» различий в потенциях составляющих их клеток.

По аналогии вполне естественно предположить, что характерные структура и свойства корневого и стеблевого апексов могут также определяться внутренними различиями в потенциях развития (но не *генетических* потенциях) составляющих их клеток. Это более вероятно, чем то, что различия в типе дифференцировки корневого и стеблевого апексов являются *следствием* организации и биохимических процессов в апексах.

Наиболее прямой способ проверки внутренней детерминации клеток меристем заключается в выращивании кусочков апикальных меристем стебля и корня в стерильной культуре и последующем сравнении их поведения и потребностей в различных ростовых факторах. Однако, хотя стеблевые апексы ряда видов растений успешно культивируют, эти апексы всегда слишком велики и содержат вакуолизирующиеся и созревающие клетки. Вместе с тем из кончиков корней кукурузы удалось выделить покоящиеся центры и показать, что из них можно вырастить новые корни. В результате первых делений, происходящих после изоляции покоящихся центров, возникает неорганизованная масса клеток, которая позднее дает начало организованному тканям корня. Сам покоящийся центр обнаруживает полярность, образуя на своем (нормально) дистальном конце корневой чехлик, а на проксимальной стороне — ткани корня. Для роста покоящегося центра необходимы как ИУК, так и кинетин. Эти результаты, по-видимому, свидетельствуют о том, что клетки покоящегося центра, по существу, детерминированы как клетки корня.

Образование придаточных корней на стеблях и адвентивных почек на корнях на первый взгляд кажется противоречащим представлению о внутренней детерминации апикальных клеток побега и корня, заставляющей их развиваться соответственно в побег или корень. Эти данные показывают, что детерминация каких-то взрослых клеток стебля и корня обратима, и из них может возникнуть соответственно корневой или стеблевой апексы. Однако при развитии адвентивных корней или почек из перицикла и тканей коры происходит «дедифференцировка» взрослых клеток и возобновление меристематической активности (с. 252). Таким образом, вполне возможно, что в процессе созревания и последующей дедифференцировки исходное состояние детерминации клеток верхушечной меристемы, из которой возникли эти клетки, могло утратиться. У некоторых видов адвентивные корни появляются вблизи от верхушечных меристем побега. Правда, при более внимательном изучении таких случаев всегда обнаруживается, что корневые инициалы появляются из частично дифференцированных и созревших тканей.

13.15. ДАЛЬНЕЙШАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА АПИКАЛЬНЫХ ЗОН

Мы уже знаем, что в ходе развития происходит последовательное вступление клеток на тот или иной путь дифференцировки, и этот процесс мы назвали «канализацией развития». Канализация развития должна отвечать двум требованиям: 1) клетки общего происхождения должны вступить на разные пути дифференцировки и 2) вступив на какой-либо путь, они следуют по нему и становятся «детерминированными». Мы уже рассматривали один процесс, посредством которого две дочерние клетки подвергаются различной дифференцировке — это неэквивалентное, или асимметричное, деление. Мы также обсуждали данные по детерминации у растений, в частности по детерминации апикальных меристем. Теперь мы рассмотрим вопрос о том, в какой степени эти процессы могут определять тип упорядоченной дифференцировки тканей и органов в апикальных зонах корней и побегов высших и низших растений.

У таких водорослей, как *Chara*, а также у мхов и многих папоротников, единственная апикальная клетка подвергается неэквивалентному делению и наружная дочерняя клетка остается апикальной, а из внутренней клетки путем дальнейших неэквивалентных делений возникают дифференцированные клетки таллома. У некоторых мхов и нескольких птеридофитов, например у определенных видов *Selaginella*, можно проследить происхождение различных тканей взрослого стебля вплоть до первых делений апикальной клетки и ее непосредственных производных. Эта проблема недавно была очень тщательно изучена на ультраструктурном уровне; объектом исследования служил корень водного папоротника *Azolla*. У этого папоротника единственная апикальная клетка имеет форму тетраэдра. Производные клетки последовательно отделяются от трех проксимальных граней этой клетки. Каждая из этих производных снова делится, и эти деления происходят крайне упорядоченно, так что можно точно проследить линию клеток, ведущую к каждой клетке взрослого корня (рис. 13.13). Некоторые из этих делений асимметричные (неэквивалентные), а другие — симметричные. Однако дифференцировка, очевидно, не обязательно связана с характером деления, так как иногда в результате неэквивалентного деления возникают одинаковые дочерние клетки, а в других случаях сестринские клетки, появляющиеся в результате эквивалентного деления, дифференцируются совсем по-разному (например, наружные ситовидные элементы и клетки периккла). Таким образом, клеточной дифференцировке в корне *Azolla* не обязательно предшествует неэквивалентное деление.

В корнях высших растений трудно идентифицировать инициальные (промеристематические) клетки, но тем не менее,

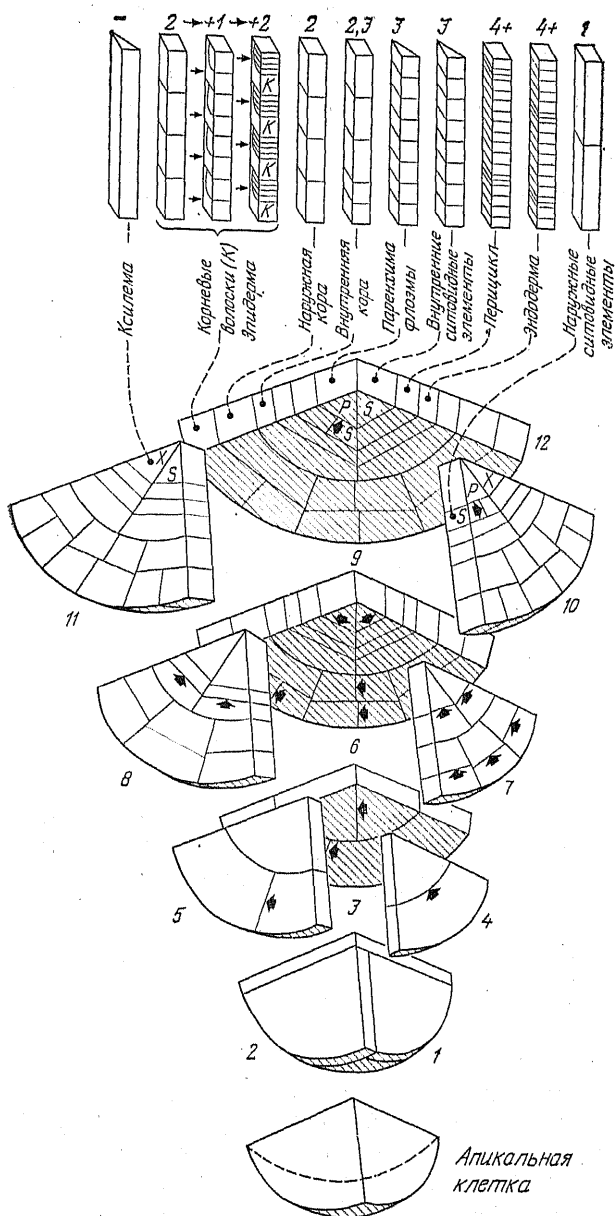


Рис. 13.13. Картина клеточного деления в апикальной зоне корня водного папоротника *Azolla pinnata*. (Рисунок любезно предоставлен проф. В. Gunning.) При делении единственной апикальной клетки, имеющей форму тетраэдра, дочерние клетки отделяются от ее трех внутренних граней, и каждая из них подвергается ряду дальнейших делений, происходящих в строгом порядке (новообразованные клеточные стенки указаны жирными стрелками). Из каждой клетки самого верхнего сектора возникает определенная ткань взрослого корня путем образования продольных рядов клеток каждой такой ткани, как это показано вверх диаграммы.

изучая картину клеточного деления, можно проследить клеточные ряды вплоть до границ покоящегося центра. Так, очень близко от самой промеристемы можно видеть клеточные ряды, которые в конце концов образуют специфические ткани взрослого корня (центральный цилиндр, кору, эпидерму и корневой чехлик). Однако мы не знаем, *детерминированы* ли уже клетки каждого данного ряда, чтобы дать начало той или иной ткани. Иными словами, мы не знаем, 1) наблюдаются ли различия в потенциях уже у первых производных инициальных клеток промеристемы, а затем эти различия только сохраняются в ходе дальнейших делений, что в конце концов приводит к образованию разных тканей взрослого корня, или же 2) вначале из клеток этих рядов еще может возникнуть любая основная ткань корня, и только позже, с помощью каких-то неизвестных процессов, определяется тип их дифференцировки.

Тот факт, что у некоторых корней клеточные ряды можно проследить вплоть до специфических слоев клеток в меристеме, соответствует теории гистогенов, предложенной в 1868 г. Ганштейном. Согласно этой теории, в апексах стебля и корня можно различить три меристематические зоны: плерома, перибласт и дерматоген, из которых возникают соответственно проводящий цилиндр, кора и эпидерма. Таким образом, в соответствии с теорией гистогенов, различные ткани имеют различные инициальные клетки, и из них возникают различные зоны взрослого корня. Поэтому возможно, что покоящийся центр действительно состоит из клеток с различными потенциями в отношении их развития.

Хотя концепция гистогенов до сих пор применима для меристемы корня, она вряд ли годится для апексов побегов высших растений по следующим причинам. Во-первых, проводящая ткань листовых следов образуется из клеток коры, и эти следы, очевидно, пересекают все границы потенциальных гистогенов, которые могли бы существовать в апикальной зоне побега. Во-вторых, мы видели (с. 58), что апекс стебля представляет собой самоорганизующуюся структуру, обладающую свойством саморегуляции и регенерации. Если это так, то очевидно, что характер дифференцировки клеток в апексе стебля определяется свойствами этой структуры как целого. А если принять, что дифференцировка обусловлена неэквивалентным делением и установлением рядов детерминированных клеток, то следует признать, что организация и свойства апикальной зоны определяются внутренними свойствами составляющих ее клеток.

Хотя ранее мы приводили доводы в пользу того, что различие между апексами побега и корня могут зависеть от некоторой детерминации меристематических клеток, заметим, что это вполне совместимо с представлением о дифференцировке в апикальной зоне побега, определяемой свойствами апекса как це-

лого, а не неэквивалентным делением и образованием гистогенов. Иными словами, даже если меристематические клетки апексов побега и корня детерминированы на каком-то уровне организации, внутри каждой из меристем происходит дифференцировка в разнообразные типы клеток и тканей, и, следовательно, на этом уровне клетки меристемы еще не детерминированы.

Довольно сложные взаимоотношения между влиянием на дифференцировку стеблевых и корневых апексов «организации» и «внутренних» факторов можно сформулировать следующим образом:

1. Возможно, что различия в структуре корневого и стеблевого апексов зависят от внутренних различий (детерминации) между составляющими их меристематическими клетками.
2. Органогенез и дифференцировка тканей в верхушке стебля зависят от организации и свойств апекса как целого.
3. Не ясно, влияет ли общая организация корневого апекса на дифференцировку в нем, но прослеживаемые в корне четкие клеточные ряды указывают на возможность существования гистогенов вблизи покоящегося центра.

13.16 ГОРМОНЫ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА

До сих пор мы обсуждали главным образом влияние на дифференцировку внутриклеточных факторов. Теперь мы рассмотрим другую ситуацию, а именно те случаи, когда характер дифференцировки зависит от *внеклеточных* факторов, например от влияния гормонов. По определению гормонами называются ростовые вещества, которые покидают синтезирующие их клетки и влияют на другие клетки.

Мы уже несколько раз сталкивались с таким явлением, когда гормон или комбинация гормонов вызывают качественное изменение, которое можно рассматривать как дифференцировку. Приведем несколько примеров:

- 1) индукция почек и корней в тканях каллуса под влиянием сочетания ИУК и цитокинина (с. 240);
- 2) индукция ИУК образования проводящих пучков в ткани каллуса, а также в коре и сердцевине стеблей (с. 186—187);
- 3) взаимодействие ИУК и GA_3 при дифференцировке проводящей ткани (с. 188);
- 4) закладка адвентивных корней в тканях стебля в ответ на действие ИУК (с. 197);
- 5) индукция цветения и регуляция пола гиббереллинами, ауксинами и этиленом (с. 367—371).

Приведенные выше примеры стимуляции гормонами дифференцировки, конечно, очень важны, но в большинстве случаев гормоны, очевидно, не регулируют прямо дифференциальную

активность генов, а только стимулируют рост и дифференцировку в клетках и тканях, которые уже «запрограммированы» дифференцироваться в определенном направлении. Мы уже видели, что спектр действия каждого из гормонов очень широк и что один и тот же гормон может совсем по-разному влиять на разные ткани. ИУК может стимулировать вакуолизацию клеток молодых плодов и развивающихся междоузлий, но она также стимулирует деление клеток камбия, она же необходима и для образования вторичной клеточной стенки при дифференцировке ксилемы. Точно так же GA_3 стимулирует растяжение междоузлий многих растений и синтез α -амилазы в алейроновом слое ячменя. Таким образом, *специфичность действия фитогормона зависит от самой ткани-мишени*, и гормон, по-видимому, не определяет характер избирательной экспрессии генов. Можно привести несколько хороших примеров, когда обработка гормоном вызывает синтез специфического белка-фермента, в частности GA_3 стимулирует синтез α -амилазы в алейроновом слое ячменя (с. 149), или ауксин — синтез целлюлазы. Несомненно, что гормоны стимулируют синтез специфических мРНК для таких ферментов, но нет оснований предполагать, что гормон определяет, какая часть генома будет работать в данной клетке или ткани.

Не следует забывать, что пока идентифицировано только пять основных типов эндогенных гормонов, а за время жизненного цикла в дифференцировке растения должно участвовать большое число генов, активируемых в соответствующих клетках и в правильной последовательности. Поэтому трудно представить, как такое небольшое число гормонов может регулировать активность столь большого числа генов. Однако, возможно, что только определенные «главные» гены регулируют основные пути развития, а им подчиняется большое число генов, активирующихся на последующих стадиях дифференцировки. В самом деле поразительно, что при дифференцировке, например при развитии листа или цветка, часто происходит координированная экспрессия целых блоков генов. Число основных этапов развития высшего растения, в регуляции которых участвуют «главные» гены, совсем невелико, и не исключено, что взаимодействие между уже известными гормонами может играть важную роль в регуляции некоторых из этих этапов.

По уже упомянутым причинам, представляется маловероятным, чтобы гормоны играли роль специфических «эффекторов» экспрессии генов. Возможно, что в тонкой регуляции активности генов участвуют вещества более специфического действия, такие, как молекулы белков или РНК. Действительно, согласно некоторым данным, гормоны связываются со специфическими белками, и в таком случае специфичность действия гормонов в данной клетке-мишени может зависеть от рецепторного белка,

а не от молекулы гормона. Поэтому возможно, что детерминация связана с образованием специфических рецепторных белков и что при последующем появлении гормонов, связывающихся с этими белками, наблюдается предопределенный тип дифференцировки.

13.17. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕЖДУ КЛЕТКАМИ РАСТЕНИЙ НА БЛИЗКИХ РАСТОЯНИЯХ

Клеточные взаимодействия, осуществляемые посредством гормонов, могут проявляться как на малых, так и на очень больших расстояниях. Сейчас, однако, нам предстоит рассмотреть ближние взаимодействия, от клетки к клетке. Наличие таких взаимодействий у животных твердо установлено. Поскольку клетки животных подвижны и разные клетки могут смешиваться, они должны обладать способностью *взаимного узнавания*. Это обеспечивается специфическими веществами, прежде всего белками, расположенными на поверхности клеток. Кроме того, в зародышах животных ткани некоторых типов могут побуждать соседние, контактирующие с ними клетки к дифференцировке, и есть все основания полагать, что это явление обусловлено перемещением способных к диффузии веществ от клетки к клетке. В отличие от клеток животных соматические клетки растений неподвижны, поэтому они, скорее всего, не нуждаются в механизме узнавания. Напротив, подвижные половые клетки растений нуждаются в таком механизме, что проявляется не только при взаимодействии пыльцы и рыльца у высших растений, но и при слиянии гамет одноклеточных водорослей, таких, как *Chlamydomonas*.

Процесс узнавания клеток у растений был обнаружен при изучении несовместимости у цветковых растений. У многих видов растений имеется система генетически обусловленной несовместимости, препятствующая самоопылению и, следовательно, способствующая перекрестному опылению. При *гаметофитной* самонесовместимости существует один или более генов с различными аллелями (S_1 , S_2 , S_3 и т. д.), и если пыльцевое зерно попадает на диплоидное рыльце и S -аллель экспрессируется в его фенотипе, то при совпадении аллелей пыльцы и рыльца происходит отторжение пыльцевой трубки (рис. 13.14). В этом случае пыльца прорастает и пыльцевая трубка проникает в рыльце, но ее рост прекращается или в самом рыльце, или в проводниковой ткани столбика прежде, чем сможет произойти оплодотворение. При *спорофитной* самонесовместимости поведение пыльцевых зерен определяется генотипом родительского растения и может проявляться доминирование генов (рис. 13.14). При такой несовместимости зерна «своей» пыльцы про-

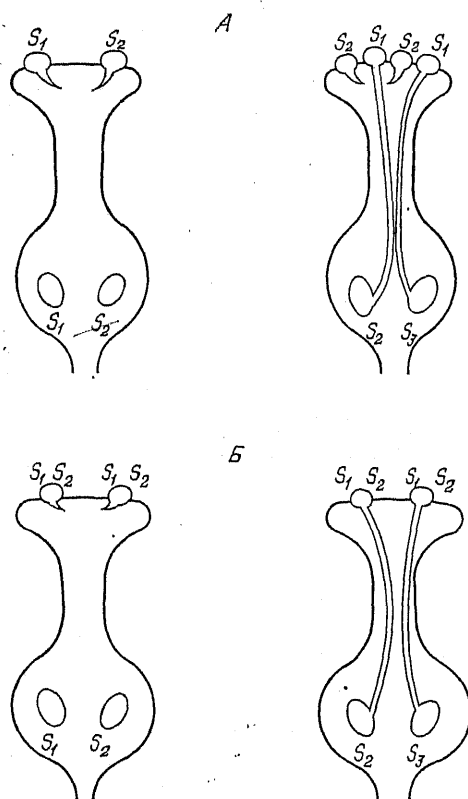


Рис. 13.14. Гаметофитная (А) и спорофитная (Б) несовместимости. При гаметофитной несовместимости фенотипическое выражение S-аллеля зависит от генотипа пыльцевого зерна, прорастающего на диплоидном рыльце, а при спорофитной несовместимости фенотип всех пыльцевых зерен определяется генотипом родительского растения (S_1 , S_2). В обоих случаях *слева* показано два типа самонесовместимости, а *справа* — совместимое скрещивание: А — для S_1 пыльцевых зерен при гаметофитной несовместимости и Б — для всех пыльцевых зерен при спорофитной несовместимости при условии доминирования S_1 .

растают и трубка может даже проникнуть в рыльце, но затем ее рост прекращается и оплодотворения не происходит.

Оболочки пыльцевых зерен состоят из двух слоев, наружной *экзины* и внутренней *интины*. У многих видов экзина имеет сложное строение и внутри нее имеются полости, содержащие белки. Интина также содержит белки. Белки экзины происходят из тапетума пыльника, т. е. из ткани спорофита, а белки интины синтезируются позднее в самих пыльцевых зернах. Когда пыльцевое зерно попадает на влажную поверхность рыльца, происходит высвобождение белков экзины и они за несколько минут диффундируют по поверхности рыльца. Можно показать,

что белки эскины пыльцы связываются с белками на поверхности рыльца. У представителей семейств крестоцветных и сложноцветных, для которых характерен спорофитный тип несовместимости, пыльцевое зерно набухает и прорастает, но при несовместимом опылении рост трубки быстро прекращается, и ее кончик выстилается слоем каллозы (β -1,3-глюкан). Контактующие с трубкой клетки рыльца также откладывают каллозу на внутренней поверхности оболочки в месте контакта с несовместимым зерном. Каллоза не откладывается при совместимом скрещивании, трубка продолжает расти, и происходит оплодотворение. Образование каллозы может вызвать даже нежизнеспособная пыльца, но если пыльцу промыть, то каллоза не образуется. Кроме того, отложение каллозы можно вызвать экстрактом пыльцы, и было показано, что этот экстракт содержит гликопротеиды. Таким образом, поверхность рыльца может различать белки оболочек различного происхождения.

У растений с гаметофитной самонесовместимостью ответная реакция зависит от процессов в канале столбика, или в проводниковой ткани, или в некоторых случаях, например, у злаков, в рыльце. Если наблюдается ранняя ответная реакция, то в ней, очевидно, участвуют белки интины пыльцевого зерна, а если реакция замедлена, то синтез факторов несовместимости, возможно, происходит во время последующего роста трубки. Эти факторы взаимодействуют с богатым гликопротеидами материалом проводниковой ткани. Прекращение роста трубки у злаков сопровождается отложением каллозы в пыльцевой трубке, а не в рыльце. У тех видов, у которых подавление роста трубки происходит позже, например у пасленовых, кончик трубки может закупориваться каллозой или разрываться с высвобождением частиц, содержащих предшественники каллозы.

Мы располагаем лишь незначительными сведениями относительно природы событий, происходящих в период между реакциями узнавания, когда связываются белки пыльцы и рыльца (столбика), и последующим отторжением, когда прекращается рост трубки и откладывается каллоза. При спорофитной несовместимости, например у крестоцветных, в месте связывания пыльцы на поверхности рыльца, вероятно, образуется способное к диффузии вещество, стимулирующее синтез каллозы, так как в норме этого вещества нет в сосочках рыльца. Такая реакция несколько напоминает ответную реакцию растительных тканей на вторжение патогена.

Хотя о природе взаимодействий пыльцы и рыльца еще многое предстоит узнать, несомненно то, что узнавание «своей» и «чужой» пыльцы достигается путем связывания белков пыльцы и рыльца.

Пока мы не знаем, существуют ли аналогичные реакции узнавания между соматическими клетками растений, но может

быть к этой проблеме имеет отношение тот факт, что прививки между некоторыми генотипами удаются, а в других случаях они не получаются. Молекулярные основы отторжения или совместности привитых тканей растений мало изучены, хотя о соответствующем явлении у животных известно очень много. Однако, возможно, что и соматические клетки растений могут узнавать друг друга наподобие того, как это делают клетки пыльца и рыльца.

Накапливается все больше данных, свидетельствующих о важной роли гликопротеидов в процессах клеточного узнавания как у растений, так и у животных. Гликопротеиды содержат простые или разветвленные углеводные цепи, ковалентно прикрепленные к их поверхности. Они широко распространены в растениях, особенно в семенах, но их функции неизвестны. Другая группа белков, играющих, вероятно, важную роль в процессе узнавания клеток, — это *лектины*. Молекулы лектинов имеют участки, обладающие сродством к остаткам сахаров, и, следовательно, они могут связываться с цепями сахаров гликопротеидов. Некоторые растительные лектины проявляют высокую специфичность связывания и присоединяются только к определенным комбинациям сахаров. Это, по-видимому, может служить молекулярной основой механизма клеточного узнавания, и действительно опыты с гаметам *Chlamydomonas* показали, что именно такого рода молекулярные взаимодействия обуславливают узнавание и слипание гамет противоположного пола.

13.18. НЕГЕННЫЕ ФАКТОРЫ РАЗВИТИЯ

До сих пор мы говорили о развитии как о процессе «избирательной экспрессии генов», при которой происходит регуляция активности специфических групп генов, в свою очередь регулирующих синтез ферментов и структурных белков, характерных для специализированных клеток. Информация, закодированная в ДНК, определяет последовательность аминокислот в полипептидных цепях белков, т. е. их первичную структуру. Образование же структур более высоких порядков зависит от первичной структуры полипептидной цепи и не нуждается в регуляции со стороны генома. Иными словами, генетический контроль первичной структуры определяет вторичную, третичную и четвертичную структуры белка.

Однако совершенно очевидно, что клетка — это не просто случайная смесь ферментов и других белков; она представляет собой высокоорганизованную систему, т. е. в ней имеются органеллы, мембраны и другие образования, структура которых определяется не ферментативными процессами и, следовательно, не находится под прямым контролем закодированной в ДНК информации. Одним из механизмов формирования ряда субкле-

точных структур является процесс *самосборки*, в ходе которого крупные агрегаты, такие, как рибосомы, микротрубочки или мембраны, образуются в результате спонтанной ассоциации более мелких субъединиц, часто просто макромолекул белка или нуклеиновых кислот. Такая самосборка не регулируется ферментами, а определяется физико-химическими свойствами объединяющихся субъединиц.

Помимо хорошо известного процесса самосборки молекул можно привести и другие примеры влияния на развитие негенных факторов, проявляющегося на уровне организации органелл и клеток. Так, для растений известно много случаев «цитоплазматического наследования» (когда определенные свойства передаются потомкам через материнскую цитоплазму), и мы теперь знаем, что некоторые органеллы, а именно пластиды и митохондрии, обладают определенной степенью автономности и содержат собственную ДНК.

В качестве других негенных факторов можно рассматривать некоторые «физические» свойства клеток и тканей. Мы уже говорили о значении условий окружающей среды, таких, как свет и температура, для развития растений, но необходимо учитывать также и другие факторы; в частности поверхностное натяжение или градиенты диффузии кислорода, возникающие и действующие внутри самих клеток и тканей. Например, уже были сделаны попытки использовать физические законы для объясне-

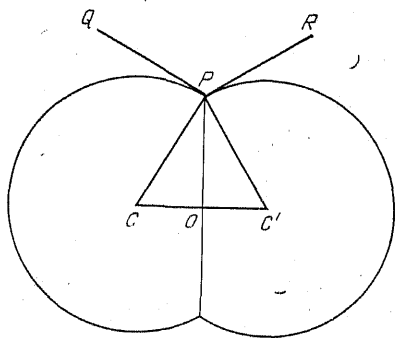


Рис. 13.15. Устойчивое положение перегородки с минимальной поверхностью между двумя соприкасающимися равными пузырями. (D. A. W. Thompson, *Growth and Form*, Cambridge University Press, 1942.)

Углы OPQ и OPR равны 120° . Расстояние между центрами равно радиусу.

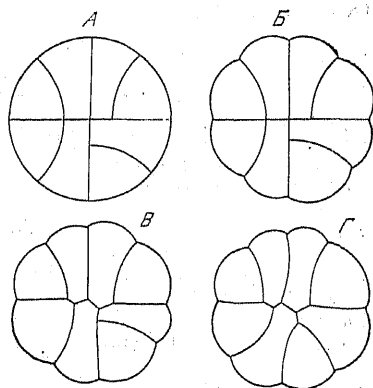


Рис. 13.16. Пластика из восьми клеток (или пузырей) с минимальной площадью поверхности, находящаяся в состоянии равновесия. (D. A. W. Thompson, *Growth and Form*, Cambridge University Press, 1942.)

ния ориентации клеточных стенок. В ранних работах проводили параллель между формой и расположением клеток в ткани и пузырьков в мыльной пене. Форму мыльных пузырей сейчас объясняют законами поверхностного натяжения, под действием которого пузыри стремятся принять форму с минимальной поверхностью (рис. 13.15). Эррера предположил, что подобным образом можно объяснить и форму клеток (рис. 13.16), хотя трудно сказать, можно ли клеточную стенку считать эквивалентом почти неощутимой пленки мыльного пузыря. Кроме того, форма многих клеток, например клеток камбия, по-видимому, не отвечает принципу минимальной поверхности. Однако законы Эрреры, вероятно, приложимы к изолированным клеткам или группам клеток, не подвергающимся давлению и другим воздействиям со стороны окружающих клеток в массе ткани. Так, ориентация клеточных стенок, образующихся на ранних этапах эмбрионального развития растений, возможно, в соответствии с законом Эрреры, определяется силами поверхностного натяжения.

Мы не можем более полно раскрыть здесь эту тему, но все же было бы неправильным утверждение, что все аспекты роста и развития растений обуславливаются информацией, закодированной в ДНК ядра.

ЛИТЕРАТУРА

Общая литература

- Bryant J. A. (ed.), 1976. Molecular Aspects of Gene Expression in Plants, Academic Press.
 Cohen S. H., Shapiro J. A. (1980). Transposable genetic elements, Sci. Amer., 242 (2), 36.
 Graham C., Wareing P. F., 1976. The Developmental Biology of Plants and Animals, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
 Grant P., 1978. Biology of Developing Systems, Holt, Rinehard and Winston, New York.
 Heslop-Harrison J., 1978. Cellular Recognition Systems in Plants, Edward Arnold, London.
 Smith H. (ed.), 1977. The Molecular Biology of Plant Cells, Blackwell Scientific Publications, London.
 Thomas H., 1976. The structure of nucleic acids and proteins. In: Plant Structure Function and Adaptation (ed. M. A. Hall), MacMillan, London.

Специальная литература

- Brachet J. (1968). Synthesis of macromolecules and morphogenesis in *Acetabularia*, Current Topics in Devel. Biol., 3, 1.
 Brink R. A. (1962). Phase change in higher plants and somatic cell heredity, Quart. Rev. Biol., 37, 1.
 Britten E. H., Davidson R. J. (1979). Regulation of gene expression: Possible role of repetitive sequences, Science, 204, 1052.
 Causton D. R., 1977. A Biologist's Mathematics, Edward Arnold.
 Flavell R. (1980). The molecular characterisation and organisation of plant chromosomal DNA sequences, Ann. Rev. Plant Physiol., 31, 569.

- Gunning B. E. S., Hughes J. E., Hardham A. R. (1978). Formative and proliferative cell divisions, cell differentiation and developmental changes in the meristem of *Azolla* roots, *Planta*, **143**, 121.
- Halperin W. (1978). Organogenesis at the shoot apex, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **29**, 239.
- Hämmerling J. (1963). Nucleo-cytoplasmic interactions in *Acetabularia* and other cells, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **14**, 65.
- Jacob F., Monod J., 1963. Chapter in: Cytodifferentiation and Macromolecular Synthesis, Academic Press, New York and London.
- Klein R. M. (1965). The physiology of bacterial tumors in plants and habituation, *Encycl. Plant Physiol.*, **15**(2), 209.
- Kung S. D. (1977). Expression of chloroplast genomes in higher plants, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **28**, 401.
- Leaver C. L., Lovett J. S. (1974). An analysis of protein and RNA synthesis during encystment and outgrowth (germination) of *Blastocladia* zoospores, *Cell Differentiation*, **3**, 165.
- Leaver C. J. (ed.), 1980. Genome Organisation in Plants, NATO Advanced Study Institute Series, Series A, Life Sciences **A29**, Plenum Press.
- Meins F. (1979). Cell determination in plant development, *Bio Science*, **29**, 221—225.
- Puiseux-Dao S., 1970. *Acetabularia* and Cell Biology, Logos Press Ltd., London.
- Quatrano R. S. (1978). Development of cell polarity, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **29**, 487.
- Sinnott E. W. (1944). Cell polarity and the development of form in cucurbit fruits, *Amer. J. Bot.*, **31**, 338.
- Wareing P. F. (1971). Some aspects of differentiation in plants. In: Control Mechanisms of Growth and Differentiation (eds. D. D. Davies and M. Balls), Symp. Soc. Exp. Biol., **25**.
- Wareing P. F. (1978). Determination in plant development, *Bot. Mag. Tokyo*, special edition, **1**, 3—18.

Предметный указатель

Номера страниц, напечатанные курсивом, относятся к рисункам.

- Абсцизовая кислота, влияние на вод-
ный баланс 214—217
— — — гравитропизм (геотро-
пизм) 294—296
— — — — деление клеток 146
— — — — опадение органов 442
— — — — покой 410—412
— — — — рост растяжением 142
— — — — синтез нуклеиновых кис-
лот и белков 146, 152, 157
— — — — старение 432
— — — — выделение и химическое строе-
ние 111—114
— — — метаболизм 112—115
— — — механизм действия 129, 142—
143, 152, 157
— — — передвижение в растениях
174—175
Автолиз 434—435
Автофагия 434
Агравитропизм (агеотропизм) 283
Адвентивные зародыши (эмбриониды)
242—245
Аденин 100
S-Аденозилметионин (SAM) 108—109
Алар *см.* 2,2-диметилгидразид янтар-
ной кислоты
Аллантоиновая кислота 106
Алейроновый слой, реакция на фито-
гормоны 147—154, 159
Аллен 128
Аллогигбберовая кислота 99
 α -Амилаза 148—153, 158, 417
Амилопласты 25
— как статолиты 284—289
6-Аминопурин 100
1-Аминоциклопропан-1-карбоновая
кислота (АЦК) 108—109
АМО-1618 96, 97, 226
Антеридиоген 92
Апекс корня 60—64
Апикальная клетка 43
Апикальное доминирование 204,
205—211
— — — теория прямого доминирования
207
— — — трофическая 207
Апикальные меристемы, культура 233
— — — побега 42—50, 57—60, 64—68
Арабиногалактаны 18—19
Арабиноза 18, 19
Асимметричное (неэквивалентное) де-
ление клеток 30—32
Ассимиляция, чистая скорость 75
Ауксины, биотесты на определение
82—83
— влияние на активность камбия
187—191
— — — апикальное доминирование
206—208
— — — биосинтез этилена 183
— — — клеточную стенку 133—144
— — — опадение органов 441, 445
— — — развитие столонов 211—212
— — — растяжение междоузлий
175—178
— — — регенерацию корней 249—
251
— — — — ксилемы 186—188
— — — — рост зародышей в стериль-
ной культуре 235
— — — — корней 194—197
— — — — листьев 192—194
— — — — плодов 199—203, 221
— — — — старение 431—432
— — — индукция цветения 221
— — — локализация синтеза 81—83
— — — механизм действия 119—123, 132—
141, 154, 158, 160
— — — открытие 81—85
— — — полярный транспорт 164—172
— — — проявление пола 371—372
— — — синтетические 119, 222—223
— — — транспорт при гравитропизме
290—296
— — — — фототропизме 270—282
— — — — эндогенные 81—85
Ацетилен 128
АЦК *см.* 1-аминоциклопропан-1-кар-
боновая кислота
Белки ядерные кислые 450, 462—464

- Бензиладенин 101
 6-Бензиламино-9-метилпурип 146
 Бензойная кислота 122
 В-9 и В-995 см. 2,2-диметилгидразид
 янтарной кислоты
- Вакуолизация клеток 14—17
- Взаимодействия ауксина и гибберел-
 лина, влияние на растяжение стебля
 181—182
 — гиббереллина и ауксина, влияние
 на активность камбия 187—191
 — клеток при дифференцировке, гор-
 мональные 158, 487—489
 — пыльца — рыльце 489—491
 Вилоксантип 112—113
 Водный баланс, гормональный конт-
 роль 213—220
 Высокоэнергетические реакции 314—
 316
- Галактоза 18, 19
 Галактуронозая кислота 18, 21
 Гаметофитная самонесовместимость
 489—492
 Гельминтоспораль 92
 Гемцеллюлозы 18
 Генетическая (эволюционная спи-
 раль) 47
 Генетические карлики 90
 Гены-операторы 460
 — репрессоры 460
 — структурные 460
 Геотропизм см. Гравитропизм
 Геранилгеранилпирофосфат 96, 97
 Гетерогенная ядерная РНК (гяРНК)
 457
 Гетерохроматин 463
 знт-20-нор-Гиббереллан 92
 Гиббереллановая кислота 99
 Гиббереллетин 59
 Гиббереллин А 90
 Гиббереллины, биосинтез 93, 97
 — влияние на активность камбия
 187—191
 — — апикальное доминирование
 211
 — — возникновение генетических
 карликов 400
 — — покой семян 405—412
 — — прорастание 405—412
 — — проявление пола 372
 — — развитие листьев 192—194,
 313
 — — — столонов 211—212
 — — — растяжение междоузлий
 178—182
 — — — рост корня 195, 197
 — — — — плодов 202—203, 224
 — — — ростовые движения 281, 291
 — — — старение 431
 — — — цветение 367—371
 — локализация синтеза 95, 181, 192,
 194—196
 — метаболизм 93—99
 — механизм действия 123, 126, 129,
 135, 142, 146, 148—160
 — открытие 90—93
 — передвижение в растениях 172—
 173
 Гибберелловая кислота 90—93, 99
 Гибберовая кислота 99
 Гидразид малеиновой кислоты 227
 Гидроксипролин 18
 Гидротропизм 265
 Гипоксантип 106
 Гипонастия 260
 Гистоны 450—451, 462—464
 Глазные гены 488
 Гликопротеиды и узнавание клеток
 492
 Глюкоза 19
 Гомогенетическая индукция 187
 Гомосерин 109
 Гормон (стимул) цветения 337—341
 Гормоны растений, влияние на диффе-
 ренцировку 158, 487—489
 — — классификация 80
 — — метаболизм 85—89, 93—115
 — — механизм действия 117—160
 — — определение 80—81
 — — регуляция покоя 405—412
 — — связь структуры и активности
 119—129
 — — способы действия 117—160
 Гравиморфизм 298
 Гравитропизм (геотропизм) 282—299
 Граны 25
- Движения эпинастические 259, 260—
 263
 Действие генов у бактерий, теория
 Жакоба — Моно 460—461
 Деления клеток антиклинальные 43
 — — вакуолизированных 17
 — — в суспензионной культуре 238,
 239
 — — гормональная регуляция 144—
 147
 — — неэквивалентные 30—32, 469—
 470
 — — периклинальные 43
 — — поляризованные 37—38, 470
 Детерминация апекса побега 58—60,
 480—483

- в развитии листа 50—56
- и тотипотентность 479—480
- корневого апекса 63, 480—483
- Диатравитропные органы 282
- Дигидрозеатин 102
- Дигидрофазеевая кислота 114—115
- Диметилаллиладенин 102
- 2,2-Диметилгидразид янтарной кислоты (В-9; алар) 96, 226
- Дифенилмочевина 127
- Дифференцировка, взаимодействие ядра и цитоплазмы 469
- влияние гормонов 158, 487—489
- клеток и клеточных стенок 24—29
- корня 63—64, 480—483
- — и побега в процессе эмбрионального развития 40—42
- определение 11, 23, 24
- стебля 57—58, 480—483
- уровни 39
- экспрессия генов 449—492
- 2,4-Дихлоранализол 121
- Дихлорбензойные кислоты 122
- 2,4-Дихлорфеноксинзоемасляная кислота 121
- 2,4-Дихлорфепоксиксусная кислота (2,4-Д) 119, 120, 121, 222, 223
- Длиннодневные растения 323, 324
- Длиннокороткодневные растения 324
- ДНК сателлитная 453

- Закон Эрреры 494
- Запрограммированная смерть 422
- Зародыш, развитие 40—42
- Зародыш, стерильная культура 234—235, 242—245
- Зеатин [6-(4-гидроксиз-3-метил-2-бутил)аминопурин 102, 104, 106

- Изопентениладенин *см.* Диметилаллиладенин
- Изопреновое звено 93
- Имагинальные диски 476
- Ингибиторы роста (ретарданты) 95, 96, 225—226
- — эндогенные 111—115, 142, 146, 293—296, 409—412
- Индекс эффективности 73
- Индоленингидроксипероксид 88
- Индоленинэпоксид 88
- 3-Индолилацетальдегид (3-индолилуксусный альдегид) 86, 87
- Индолилацетиларабиноза 89
- Индолилацетиласпарагиновая кислота 89
- Индолилацетилглюкоза 89
- 3-Индолилацетонитрил (ИАН) 85
- γ-Индолил-3-масляная кислота 119, 120
- 3-Индолилпировиноградная кислота 86, 87
- α-Индолил-3-пропионовая кислота 119, 120
- 3-Индолилуксусная кислота (ИУК), биосинтез 85—87
- — встречаемость 84
- — разрушение 87—88
- — конъюгаты 89
- Индолилэтилацетат 89
- Интина 490
- ИУК-миоиннозит 89
- ИУК-оксидаза 88
- Июньский опад 445

- Камбий, регуляция активности 187—191
- Канализация развития 484
- Карликовость проростков из неохлажденных семян 400
- β-Каротин 268
- энт-Каурен 92, 96, 97
- «Кислый» рост 139
- Клетки центральные материнские 45
- Клеточная пластинка 21
- Клеточная стенка вторичная 27—29
- — дифференцировка 27—29
- — рост 17—23, 132—144
- Климатерический подъем дыхания 107
- Колончатая меристема 45
- Конгенитальное слияние 68
- Корень, инициация в культуре каллуса 240—241
- Корневой чехлик 64, 288
- Короткодневные растения 323, 324
- Коррелятивное ингибирование 204—211
- Корреляции в процессе старения 424—428
- ростовые 204—212
- Красный — дальний красный, влияние на покой почек 392
- — — — — семян и прорастания 397—398, 408
- — — — — фотоморфогенез 301—306
- — — — — цветение 333—336
- Криптохром 282
- Критическая длина дня 323
- Критический темновой период 329—334
- Круговые нутации 259—260
- Ксантин 106
- Ксилоглюканы 19, 20
- Ксилоза 18, 19

- Культура каллуса 100, 185—186, 236,
 237, 240, 251—255
 — — привыкшая 237, 473, 477
 — клеток суспензионная 237—240
 — органов 232—235
 — протопластов 246—249
 — пыльников 245—246
 — тканей 235—237
- Леггемоглобин 458
 Лейкопласты 25
 Лектины 492
 Лигнин 29
 Лигнификация 29
 Листоно-весоной коэффициент 75
 Листовой выступ 51
 Листья, индуцированное и неиндуци-
 рованное состояние 341—344
 — инициация 46—50
 — модификация в покоящихся поч-
 ках 338
 — опадение 440—444
 — развитие 50—56
 — рост, гормональный контроль
 192—194
 — старение 424—432, 436—439
 — стерильная культура 233—234
 — устойчивость фотопериодической
 индукции 341—344
 — форма 56—57
 Лунуларовая кислота 112
- Манноза 18
 Мантня 65, 66
 Мевалоновая кислота 92, 95, 97
 Междоузлия, рост растяжением,
 влияние длины дня 324, 326
 — — — гормональный контроль
 175—185
 — — — эффекты К/ДК 306, 318
 Меристемы 42—53, 57, 59, 64, 65
 — значение 12
 — маргинальные 51, 52
 — типы 13
 3-Метилен-2-оксиндол 88
 S-Метилметионин 109, 110
 5-Метилтиоаденозин 109
 Метилтиозеатин 102
 5-Метилтиорибоза 109
 Метил-2-хлор-9-оксифлуорен-9-кар-
 боксилат 227
 Метнонин 108—110
 Метнонин-аденозилтрансфераза 108,
 109
 Метод плотностного мечения 149
 Механорецепторы 264
 Микротрубочки 22, 23, 28
 Микрофибриллы 17—18, 20, 21—22,
 27
- Минеральные питательные вещества,
 влияние на старение листьев 426
 — — — — — цветение 374—375
 Митотический цикл 15
 Монокарпические виды 420
 Морозоустойчивые растения 385—387
 Мочевая кислота 106
 Мочевина 106
- Нейтральные (промежуточные) рас-
 тения 323
 Несквивалентное (асимметричное) де-
 ление клеток 30—32, 469—470
 Никтинастия 258
 Нуклеосомы 450—451, 463
 Нутации 259—260
- Обмен газов во время покоя семян
 и их прорастания 403—404
 Образование клубней, влияние длины
 дня 326
 — луковиц, влияние длины дня 326
 Окись этилена 110
 3-Оксиндолкарбинол 88
 Опадение 440—445
 — листьев 440—444
 — плодов 444
 — цветков и частей цветка 199
 Оперон 460
 Ортогравитропные органы 282
- Партеокарпия 200, 203, 224
 Пектиновые вещества 138
 Пектины 18
 Пиразол[4,3-d]пиримидины 127
 Плагиогравитропные органы 283
 Плазмиды 454—455
 Плазмодесмы 29
 Пластиды, биосинтез абсцизовой кис-
 лоты 113
 — — — гибберелинов 95
 — дифференцировка 25—27
 Пластическое растяжение 134
 Плодолистики 66—68
 Плоды, завязывание 198—200
 — развитие 198—204
 Покой внутрений (спонтанный) 387
 — вторичный 402
 — вынужденный (принудительный)
 387
 — глубокий (зимний) 389
 — гормональная регуляция 405—412
 — значение 385—387
 — летний (предпокой) 389
 — семян 395—405
 — снятие искусственными методами
 394—395

- типы 387
- фотопериодизм 390—394, 404
- эпикотили 400—401
- Покоящийся центр 62
- Поликарпические растения 420—421
- Полисахариды клеточных стенок 18—21
- Полиурониды 138
- Поляризованное деление клеток 37—38, 470
- Полярность клеток 33—37
 - развития 37—38, 470
 - тела растения 33—37
- Полярный транспорт ауксинов 164—172
- Последовательности ДНК повторяющиеся 452—454
- Послепокой 389
- Послецветочный опад 445
- Постгенитальное срастание 67
- Почки, инициация образования в апексе побега 46
 - покой 388—393, 404—405
- регенерация в стерильной культуре 240—241, 254
- Предпокой (летний покой) 389
- Предурожайный опад 445
- Проводящие ткани, влияние гормонов на развитие 185—191, 196—197
 - — регенерация в стебле 185—188
 - — — стерильной культуре 185—186
- Производные бензойной кислоты как ауксины 121—122
- Прокамбий 53, 58—60, 63, 67
- Проламеллярное тело 25, 26, 27
- Промеристема 60
- Пропилен 128
- Прорастание семян, влияние К/ДК 301—302, 397—398
 - — метаболизм 416—418
 - — условия 414—415
- Протонный насос и действие ауксина 140
- Процессинг РНК, регуляция 464—465
- Пыльники, стерильная культура 245—246
- Пыльца, стерильная культура 245—246
- Развитие, влияние негенных факторов 492—494
- Развитие, определение 11
- Рамногалактуронан 19, 20
- Раневые гормоны 252
- Растения, нуждающиеся в яровизации 356—358
- Раундап см. N-(фосфонметил)глицин
- Реакция древесины на гравитационный раздражитель 297, 298
- Регенерация, изучение в стерильной культуре 240—249
 - общие аспекты 251—255, 479—480
 - стеблевых и корневых черенков 249—251
- Рекомбинации ДНК метод 454—455
- Рецепторы гормонов 130—132
- Рибофлавин 268
- Рост аккреционный 13
 - измерение 68—76
 - корня растяжением 194—196
 - локализация 11—14
 - определение 11
 - растяжением 17—24, 132—144, 175—185, 194—196
- Ростовые движения 257—299
- Сайкосел 96, 226
- Самодетерминация апекса побега 58—60, 480—483
- Самонесовместимость 489—492
- Самосборка 493
- Сапрофитная самонесовместимость 489
- Светоростовая реакция 271, 277
- Сексуализация 371—372
- Семена, долговечность 413—414
 - покой 395
 - послеуборочное дозревание при сухом хранении 396—397
 - прорастание 414—418
 - светочувствительные 397—398
 - стратификация 399
- Сигма-фактор 464
- Скорость роста абсолютная 71—74
 - — относительная 71—74
- Созревание клеток 24
- Спектр действия реакций, регулируемых фитохромом 305, 315
 - — фототропизма 267
 - поглощения β -каротина 270
 - — рибофлавина 270
- Старение, биологическое значение 423
 - влияние окружающей среды 438—439
 - всего растения 435—438
 - гормональный контроль 429—432
 - коррелятивные эффекты 426
 - «круговорот» белка 425, 427
 - листьев 424—432, 436—439
 - — синхронное 438—439
 - характер 420—423
 - цветков 432—435
- Статенхима 284
- Статолиты 283—289

- Статоциты 284
 Стебель, рост растяжением 175—185
 Стеviol 126
 Стерильная культура апексов побега 233—234
 — — зародышей 234—235
 — — исторический аспект 231—232
 — — корней 232—233
 — — листьев 233—234
 — — потребности в минеральном питании 232—235
 — — тканей 235—237
 Стимул цветения, природа 365—367
 Столоны, развитие 211—212
 Строма 25

 Тамблвид см. N-(фосфометил)глицин
 Твердосемянность 395
 Тельца Гольджи 21
 Темновые реакции короткодневных растений 331—334
 Теория двухточечного присоединения ауксинов 121, 122
 — доступного пространства 49—50
 — подавления 49—50
 — многоточечного присоединения 122
 — трехточечного присоединения 122
 — туники — корпуса 43
 Термонастия 258
 Тетрагидропиранилбензиладенин 101
 Тигмоморфогенез 265
 Тигмонастия 263—265
 Тигмотропизм 263
 Тилакоиды 25
 Тиокарбаматы 121
 Ткань-пянька 244
 Тотипотентность 242, 252, 254, 479—480
 Триптамин 86, 87
 Триптофан 86—87
 2,4,5-трихлорбензойная кислота (2,4,5-Т) 119, 122
 2,4,5-трихлорфеноксиуксусная кислота 119, 120
 Трихобласты 30
 Тропизмы 258
 Тургорное давление, пороговое значение 133

 Углерода окись 128
 Узнавание клеток взаимное 489—492
 Укоренение «ювенильных» и «взрослых» черенков 382
 Упругое растяжение 134

 Фаза экспоненциального роста 69, 72—74
 Фазсеевая кислота 114—115
 Факторы, регулирующие цветение 378—379
 Феллоген 185
 Фенилаланин-аммиак-лигаза (ФАЛ) 312—313
 Фенолы и разрушение ИУК 88
 Ферменты индуцибельные 459
 — конститутивные 459
 — рестрикции 454—455
 Филлотаксис 47
 Фитогормоны, использование в сельском хозяйстве 220—228
 — транспорт 163—174
 Фитохром 301—318
 — внутриклеточная локализация 307—309
 — дифференциальный спектр 303
 — количественная оценка 306—307
 — контролируемые реакции 305—307
 — спектр поглощения 303, 304, 306
 — способ действия 311—313
 — фотокопверсия в клетке 310—311
 — экологическая роль 317—318
 Флавины как фоторецепторы в фототропизме 268—269
 Фланговая (периферическая) меристема 45
 Флориген, образование 337—344, 352
 Фосфон D (2,4-дихлорбензилтрибутилфосфонийхлорид) 96, 97
 N-(Фосфометил)глицин 224
 Фотоморфогенез 301—318
 Фотонастические реакции 258
 Фотопериодизм 321—327
 — высокочувствительные световые реакции 331
 — критический темновой период 329—334
 — механизм измерения времени 347, 351
 — опадение листьев 391—392
 — световые и темновые процессы 327—337
 — синтез гормона цветения 352—353
 — скотофильная фаза 348—351
 — фотофильная фаза 348—349
 — эндогенные ритмы 346—352
 Фоторецепторы для фототропизма: 267—270
 Фотостационарное состояние 315
 Фототропизм 265—282
 — зависимость доза — эффект 267
 Фторфенилбуриет 127
 Фукоза 19
 Фукоидин 470

Хемотропизм 265

- 2-Хлорбензойная кислота 122
- 4-Хлор-3-индолилуксусная кислота 85
- Хлормекват [(2-хлорэтил)триметиламмонийхлорид] 96, 226
- 4-Хлор-2-метилфеноксиксусная кислота (МХФК) 119, 120, 223
- Хлоропласты, развитие 25
- Хлорфенилфенилмочевина 127
- 2-Хлорэтанфосфоновая кислота 227
- Холодного — Вента гипотеза 270—276, 291—293
- Хроматин 450, 462—464
- Хромопласты 25
- Хромофор фитохрома 304

Цветение, влияние длины дня 321—352

- — ростовых гормонов 367—371
 - — температуры 354—367
 - — древесных растений 379—381
 - — смена фаз 381—384
 - и питание 374—375
 - ингибирующий эффект неиндуцированных листьев 344—346
 - количественные измерения 321
 - контролирующие факторы 320—321
 - нейтральных видов 375—378
- Цветок, заложение и развитие** 64—68, 372—374

Целлюлоза 17—21**Цитокинины, влияние на активность камбия** 191

- — — апикальное доминирование 210—211
- — — водный баланс растения 217—218
- — — клеточное деление 100, 236, 240—241
- — — развитие листьев 192—194
- — — — плодов 202—203
- — — — столонов 211
- — — регенерацию корней 249—251
- — — — рост корня 196, 197
- — — — старение 430—431, 436, 439
- — — гликозиды 104—105
- — — метаболизм 103—108
- — — механизм действия 144—146, 156—157, 160
- — — открытие 99
- — — передвижение в растениях 173—174
- — — связь структуры и активности 126—128
- — — эндогенные 101—103

Цитоплазматическое наследование 492—494

- Эволюционная (генетическая) спираль 47
- Экдизон 472
- Экзина 490
- Экспрессия генов и гормоны 159, 487—489
- — — развитие 448—492
- — — органелл 458—459
- — — последовательная в целом растении 471—474
- — — процессинг ядерной РНК 456—457, 464—465
- — — регуляция трансляции 465—469
- — — у бактерий, регуляция 459—461
- — — эукариот, регуляция 461—469

Элайопласты 25**Эмбриониды** 242—245**1,2-Этандиол (этиленгликоль)** 110

- Этилен 408—409
 - — аналоги 128—129
 - — биосинтез, влияние ауксинов 107, 108, 183
 - — влияние на водный баланс растений 218—219
 - — — опадение органов 218—219, 441, 445
 - — — — рост растяжением 182—185, 195—196
 - — — — синтез нуклеиновых кислот и белков 147, 152, 157
 - — — — старение 432
 - — — — эпинастические движения 261—263
 - — — метаболизм 108—111
 - — — механизм действия 128—129, 131
 - — — открытие как растительного гормона 106—108
 - — — передвижение в растениях 174
 - — — проявление пола 372
- Этиленгликоль (1,2-этандиол)** 110, 111
- Этиопласты** 25
- Эухроматин** 463
- Эффекты охлаждения во время покоя** 392—393, 399—400, 404, 407, 412
- — — — цветения 239—265
 - — — — прерывания «ночи» 332—336
- Яровизация** 354—371
- — и стимул цветения 363—365
 - — — фитогормоны 367—371
 - — — фотопериодизм 358—359
 - — — физиологические аспекты 359—371

Указатель латинских названий

- Abies abies* 382
Acer 401
 — *pseudoplatanus* 111, 188, 205, 236, 380, 382, 390, 392, 400, 406, 409
 — *saccharum* 405, 407, 412
Acetabularia mediterranea 467, 468, 469
Aesculus hippocastanum 101, 391
Agave 421
Agrobacterium tumefaciens 237
Ailanthus 389
 — *altissima* 438
Aira praecox 356
Albizia julibrissin 311
Allium cepa 326, 394
Alopecurus pratensis 325
Alternanthera philoxeroides 43
Althea rosea 368
Amaranthus caudatus 325
Amoracea lapathifolia 192
Anagallis 372
 — *arvensis* 65, 325
Anemia phyllitidis 92
Anemone nemorosa 396
Anethum graveolens 325
Antirrhinum majus 325
Apium graveolens 368, 415
Aquilegia truncata var. *formosa* 68
Arachis hypogea 236, 409
Aster 324, 357
Avena 83, 84, 163, 165, 166, 222
 — *sativa* 290, 325, 368
Azolla 484
 — *pinnata* 485

Bellis perennis 222, 368
Beta vulgaris 324, 325, 356, 357, 363, 368, 376
Betula 401
 — *pubescens* 382, 390, 404
Blastocladiella emersonii 466
Brassica 357
 — *nigra* 396
 — *oleracea* 363, 368
 — *rapa* 325

Bryophyllum crenatum 324, 367
 — *daigremontianum* 367

Callitriche 184
Calluna 380
Caltha palustris 396
Campanula medium 324, 356
Cannabis sativa 325, 371
Capsella 42, 235
 — *bursa-pastoris* 40, 41, 387
Capsicum 234
Castanea 389
Cerastium 387
Cercospora rosicola 112
Cestrum nocturnum 324
Chamaecyparis 381
Chara 42, 284
Cheiranthus allionii 357
 — *cheirii* 357
Chenopodiaceae 395
Chenopodium 372
 — *album* 318, 325, 333, 367
 — *rubrum* 320, 350, 351
Chlamydomonas 484, 492
Chlorella 72
Chrysanthemum morifolium 45, 180, 325, 357
Cichorium 59
 — *endivia* 368
 — *intybus* 185, 250
Citrullus vulgaris 198
Citrus sinensis 443
Cladophora 36
Coffea arabica 325, 380
Coleus 168, 176, 177, 186, 187, 206, 226
 — *blumei* 482
Commelina communis 220
Compositae 413
Convallaria 401
 — *majalis* 394
Convolvulaceae 413
Convolvulus 233
Cornus florida 401
 — *stolonifera* 392

Corylus 380
 — *abellana* 401
Cosmos bipinnatus 325
Cotoneaster 400
Crassulaceae 365
Crataegus 400, 401
Crepis capillaris 236
Cupressaceae 225
Cupressus 381
 — *arizonica* 224
Cucumis anguria 199
 — *sativa* 73
Cucurbita maxima 93
 — *pepo* 402
Cytisus 386

Datura 44, 235
 — *innoxia* 245
Daucus carota 236, 242, 363, 368
Delphinium ajacis 376
Dianthus 357
 — *caryophyllus* 482
 — *superbus* 325
Dictyostelium discoideum 269
Digitalis purpurea 356, 368, 397, 414
Drosophila 451, 471, 476
Dryopteris 48
 — *aristata* 59
 — *dilatata* 54

Eccremocarpus scaber 264
Echinocystis macrocarpus 93
Endymion nonscriptus 357
Echinochloa colonum 285
Epilobium hirsutum 397
Equisetum 35
Erica 380
Erophila verna 356
Escherichia coli 455, 458, 459
Eucalyptus genicatalyx 297
Euphorbia pulcherrima 325
Euphorbiaceae 413

Fagopyrum tataricum 375
Fagus sylvatica 63, 382, 393, 401, 412
Festuca elatior 325
Ficaria verna 354, 396
Fragaria 325, 326
Frasera carolinensis 67
Fraxinus 401
 — *excelsior* 205, 380, 382, 396, 410, 439
Fritillaria 296
Fuchsia hybrida 375
Fucus 34, 35, 470
Fusarium moniliforme 90

Geraniaceae 395
Gibberella fujikuroi 90, 91, 93, 98, 123
Glycine max 321, 325, 329, 435
Gossypium hirsutum 323, 325, 377

Hamamelis virginiana 401
Hedera 480
 — *helix* 382, 383
Helianthus annuus 170, 176, 181, 188, 205, 234, 261, 278, 279, 281, 291, 375
 — *tuberosus* 326
Helminthosporium sativum 92
Hibiscus 380
 — *syriacus* 379
Hieracium 414
Holcus lanatus 415
Hordeum 335
 — *vulgare* 325
Hydrocharis 394
 — *morsus-ranae* 30
Hyoxyamus 335
 — *niger* 323, 325, 326, 345, 358, 368
Hypericum 379

Impatiens balsamina 396
Ipomoea hederacea 325, 376
 — *tricolor* 108, 424, 432, 433, 434, 443

Jasminum nudiflorum 380
Juglans nigra 401
Juncus 414
Juniperus 381

Kalanchoë blossfeldiana 323, 325, 333, 352, 365, 366

Labiatae 413
Lactuca sativa 324, 325, 357, 368
Larix 386
 — *decidua* 382, 390, 391, 393
Lathyrus odoratus 284, 375
 — *sativus* 452
Leguminosae 395, 413, 414
Lemna 69, 70
 — *perpusilla* 325, 351
Lens culinaris 195
Lepidium 287, 288
Linum 52
 — *perenne* 57, 357—359
 — *usitatissimum* 207, 323
Liquidambar styraciflua 391
Liriodendron tulipifera 401, 438
Lolium italicum 326

— *temulentum* 324, 325, 335, 372, 373, 374
Luffa cylindrica 264
Lunaria 360
 — *biennis* 356, 363
Lupinus 207, 252
 — *albus* 50, 59
Lycopersicum esculentum 198, 320, 375
 — *c. v. flaca* 220
Lythrum salicaria 397

Malus 401

Malvaceae 395, 413
Marach fabaceus 264
 — *macrocarpus* 93
Matthiola incana 357, 368
Melilotus albus 325
Mentha piperata 325
Michaelmas daisies 324
Mimosa pudica 311, 258
Morus 382
Myosotis alpestris 368, 370
 — *discolor* 356
Mougeotia 309

Nelumbo nucifera 413
Nemophila 397
Neurospora crassa 269
Nicotiana rustica 430, 431
 — *silvestris* 345, 346
 — *tabacum* 51, 234, 236, 243, 246, 248, 321, 325, 375
Nigella 397

Oenothera 325
 — *biennis* 415
Olea europaea 380
Oryza sativa 323, 325
Osmunda cinnamomea 55, 56, 234
Oxalis acetocella 258

Papaver 296
 — *somniferum* 368
Parthenocissus iricuspida 263
Pelvetia 35
Perilla 338, 343
 — *frutescens* 425, 426
 — *ocymoides* 325
Petkus 355, 361
Petunia hybrida 248, 325, 363, 368
Phacelia 397
Phalaris canariensis 81
Pharbitis 340, 341, 372
 — *nil* 92, 333, 334, 350

Phaseolus 192, 210, 347
 — *multiflorus* 207, 320
 — *vulgaris* 114, 166, 193, 212, 239, 258, 307, 375, 406, 432, 435
Phleum pratense 325
Phlox drummondii 397
Phycomyces blakesleeana 269
Phytomonas tumefaciens 237
Picea 401
 — *abies* 382, 392
Pilobolus 348
Pinguicula grandiflora 394
Pinus 44, 380, 401
 — *radiata* 297
 — *sylvestris* 382, 392
Pisum sativum 63, 91, 180, 192, 196, 206, 207, 325, 357, 375, 425, 463
Plantago spp. 222
Plumbago indica 328
Poa annua 375
 — *pratensis* 325
Poinsettia 380
Populus 391, 392
 — *robusta* 190, 313
Polygonatum 401
Polygonum 414
Primula vulgaris 354, 357
Prunus 202, 401
 — *persica* 380, 393
Pseudotsuga taxifolia 382
Pteridium aquilinum 420
Pyrus communis 405

Q *quercus* 380, 400
 — *robur* 382

R *anunculus* 57
 — *scleratus* 244
 — *trilobus* 66
Raphanus sativus 196, 325, 368
Rhododendron 381, 393
Rhodotypos 399
Ribes nigrum 198, 380, 388, 392, 412
Ricinus communis 32, 188, 191
Robinia 386, 389
 — *pseudacacia* 114, 390, 391, 392
Rosa 375, 401
Rudbeckia bicolor 323, 368
Rumex 420, 431
 — *obtusifolium* 408, 409, 415
 — *orisopus* 233, 397

Saccharum officinarum 325
Sagittaria 57
Salix 380, 413
Salvia splendens 323, 325

- Samolus parviflorus* 179
Saxifraga 47
Scabiosa succisa 324
Scorzonera 237
Secale cereale 325
Sedum ellacombianum 365
 — *spectabile* 325, 365, 366
Selaginella 484
Senecio vulgaris 357, 387
Sequoiadendron giganteum 401
Silene armeria 368, 370
Sinapis 62, 372
 — *alba* 64, 65, 357, 373
 — *arvensis* 222
Solanaceae 413
Solanum andigena 212, 298, 326
 — *tuberosum* 375
Solidago semulentum 324
 — *virgaurea* 368
Sorbus aucuparia 400
Spergula arvensis 405, 414
Spinacia oleracea 324, 325, 368, 436
Spirogyra 42
Spirodela polyrrhiza 410
Stratiotes 394
Syringa 381
 — *vulgaris* 207

Taraxacum 59, 431
 — *officinale* 233
Taxidiaceae 225
Taxus baccata 410
Thuja 381
 — *occidentalis* 401
 — *placata* 224
Tilia 236, 389, 401

Trifolium 325, 386
 — *repens* 258, 324, 370
Triticum 192, 222, 323, 435
 — *aestivum* 325
Tropaeolum 431
Tussilago 296

Ulmus 380, 389
Urtica 420
Utricularia 394

Veronica agrestis 356
 — *persica* 414
Viburnum 388, 400
Vicia faba 375, 449, 451
 — *sativa* 451
Victoria regia 17
Vinca rosea 66, 104
Viola 354, 357
Vitis 47, 225, 401
 — *vinifera* 215, 263, 381

Wolffia microsporica 370

Xanthium 372, 379, 402, 409
 — *pensylvanicum* 323, 437
 — *strumarium* 65, 217, 218, 325, 326,
 328, 330—333, 338, 339, 341, 343,
 346, 347

Zea mays 61, 62, 101, 124, 143, 146,
 169, 273, 290

Оглавление

Предисловие редактора перевода	5
Предисловие к третьему изданию	7
• РАЗДЕЛ I. СТРУКТУРНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ	
Введение	9
Глава 1. Развитие растительной клетки	11
1.1. Введение	11
1.2. Локализация роста	11
1.3. Деление и вакуолизация клеток	11
1.4. Рост клеточных стенок	17
1.5. Дифференцировка клеток	23
1.6. Пластиды и дифференцировка клеток	24
1.7. Клеточная стенка и дифференцировка	27
1.8. Возникновение различий между клетками	30
1.9. Полярность клеток	33
1.10. Поляризованное деление клеток	37
Литература	38
Глава 2. Особенности роста и дифференцировка растения в целом	39
2.1. Уровни дифференцировки	39
2.2. Дифференцировка корня и побега в эмбриогенезе	40
2.3. Апикальные меристемы побега	42
2.4. Заложение листьев и почек	46
2.5. Положение листовых примордиев	46
2.6. Развитие листа	50
2.7. Детерминация листа	53
2.8. Форма листа	56
2.9. Дифференцировка стебля	57
2.10. Апекс побега как самодетерминирующаяся зона	58
2.11. Апекс корня	60
2.12. Заложение и развитие цветка	64
2.13. Измерение роста	68
2.14. Рост колоний микроорганизмов	69
2.15. Рост многоклеточных организмов	72
2.15.1. Экспоненциальная фаза	72
2.15.2. Поздние фазы роста	74
Литература	76
РАЗДЕЛ II. ЭНДОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ	
Введение	78
Глава 3. Фитогормоны и их метаболизм	80
3.1. Введение	80
3.2. Ауксины	81

3.2.1. Выделение и химическое строение ауксинов	83
3.2.2. Метаболизм индольных ауксинов	85
3.3. Гиббереллины	90
3.3.1. Выделение и химические свойства гиббереллинов	90
3.3.2. Метаболизм гиббереллинов	93
3.4. Цитокинины	99
3.4.1. Эндогенные цитокинины	101
3.4.2. Метаболизм цитокининов	103
3.5. Этилен	106
3.5.1. Метаболизм этилена	108
3.6. Абсцизовая кислота	111
3.6.1. Метаболизм абсцизовой кислоты	112
Литература	115
Глава 4. Механизмы действия фитогормонов	117
4.1. Введение	117
4.2. Зависимость гормональной активности от химического строения молекул	119
4.2.1. Взаимосвязь структуры и активности ауксинов	119
4.2.2. Взаимосвязь структуры и активности гиббереллинов	123
4.2.3. Взаимосвязь структуры и активности цитокининов	126
4.2.4. Исследование взаимосвязи структуры и активности, проведенное на аналогах этилена	128
4.2.5. Химическое строение абсцизовой кислоты и ее физиологическая активность	129
4.3. Прямые данные, свидетельствующие о существовании рецепторов фитогормонов	130
4.4. Механизм действия фитогормонов на рост клеток растяжением	132
4.4.1. Свойства клеточной оболочки в связи с действием фитогормонов	133
4.4.2. Кинетика роста растяжением, индуцированного гормонами	137
4.5. Механизм действия фитогормонов на деление клеток	144
4.6. Исследования действия гормонов, проведенные на изолированных тканях и бесклеточных системах	147
4.6.1. Система из алейронового слоя злаков	148
4.6.2. Влияние фитогормонов на транскрипцию и трансляцию <i>in vitro</i> (в бесклеточных системах)	154
4.7. Гормоны и дифференцировка у растений	158
4.8. Общее заключение	159
Литература	161
Глава 5. Гормональная регуляция в целом растении	163
5.1. Введение	163
5.2. Транспорт фитогормонов	164
5.2.1. Передвижение ауксина в тканях побега	164
5.2.2. Передвижение ауксина в корнях	168
5.2.3. Механизм полярного передвижения ауксина	168
5.2.4. Передвижение гиббереллинов в растениях	172
5.2.5. Передвижение цитокининов	173
5.2.6. Передвижение этилена	174
5.2.7. Передвижение абсцизовой кислоты	174
5.3. Фитогормоны и развитие побега	175
5.3.1. Рост стебля растяжением	175
5.3.2. Ауксин и растяжение междоузлий	175
5.3.3. Гиббереллины и растяжение междоузлий	178
5.3.4. Взаимодействие ауксинов и гиббереллинов в регуляции растяжения стебля	181

5.3.5. Этилен и растяжение междоузлий	182
5.4. Гормоны и развитие проводящей ткани в стебле	185
5.4.1. Регуляция активности камбия в стеблях	187
5.5. Гормоны и развитие листьев	192
5.6. Гормоны и развитие корня	194
5.6.1. Рост корня растяжением	194
5.6.2. Развитие проводящей ткани в корне	196
5.6.3. Заложение корней	197
5.7. Гормоны и развитие плода	198
5.7.1. Завязывание плодов	198
5.7.2. Рост плодов	200
5.7.3. Партеокарпия	203
5.8. Ростовые корреляции	204
5.8.1. Апоикальное доминирование	205
5.8.2. Взаимодействие гормонов при развитии столона	211
5.9. Гормональная регуляция водного баланса растений и фотосинтеза	213
5.9.1. Изменения в содержании эндогенных гормонов при водном стрессе	213
5.9.2. Влияние затопления	219
5.9.3. Влияние обработки экзогенными гормонами в связи с водным стрессом	219
5.10. Фитогормоны в сельском хозяйстве и садоводстве	220
Литература	228
Глава 6. Методы стерильной культуры при изучении дифференцировки	231
6.1. История развития метода культуры растительных тканей	231
6.2. Культура органов	232
6.2.1. Культура корней	232
6.2.2. Культура апексов побегов и листьев	233
6.3. Культура зародышей	234
6.4. Культура тканей	235
6.5. Суспензионная культура растительных клеток	237
6.6. Изучение регенерации в стерильной культуре	240
6.6.1. Регенерация корней и почек в культуре каллусов	240
6.6.2. Образование зародышей в стерильной культуре растительных клеток и тканей	242
6.6.3. Культура пыльцы и пыльников	245
6.6.4. Выделение и культура растительных протопластов	246
6.7. Регенерация у стеблевых и корневых черенков	249
6.8. Общие аспекты регенерации	251
Литература	255

РАЗДЕЛ III. ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА РАЗВИТИЕ

Введение	256
----------	-----

Глава 7. Ростовые движения	257
7.1. Характеристика ростовых движений	257
7.2. Круговые путации	259
7.3. Эпинастические движения	260
7.4. Тигмотропизм и тигмонастия	263
7.5. Хемотропизм и гидротропизм	265
7.6. Фототропизм	265
7.6.1. Природа фоторецептора в фототропизме	267
7.6.2. Передача раздражения при фототропизме этилированных колеоптилей	270

7.6.3. Данные, относящиеся к гипотезе прямой светоростовой реакции	277
7.6.4. Фототропизм у зеленых (неэтилированных) растений	277
7.7. Гравитропизм (геотропизм)	282
7.7.1. Восприятие гравитропического раздражения	283
7.7.2. Передача гравитационного раздражения у побегов	289
7.7.3. Передача гравитропического раздражения у корней	293
7.7.4. Характер поведения неосевых органов растения	296
7.8. Гравиморфизм	298
Литература	298
Глава 8. Фотоморфогенез	301
8.1. Введение	301
8.2. Явление красный/дальний красный	301
8.3. Реакции, контролируемые фитохромом	305
8.4. Выявление и количественная оценка фитохрома <i>in vivo</i>	306
8.5. Внутриклеточная локализация фитохрома	307
8.6. Фотоконверсия фитохрома в клетке	310
8.7. Способ действия фитохрома	311
8.8. Высокоэнергетические реакции	314
8.9. Экологическая роль фитохрома	317
Литература	318
Глава 9. Физиология цветения: фотопериодизм	320
9.1. Введение	320
9.1.1. Факторы, определяющие наступление цветения	320
9.1.2. Количественное измерение реакций цветения	321
9.2. Фотопериодизм	321
9.2.1. Другие реакции на длину дня	324
9.2.2. Чувствительность к длине дня	326
9.3. Световые и темновые процессы у короткодневных растений	327
9.3.1. Природа «высокоинтенсивных» световых реакций	331
9.3.2. «Темповые» реакции короткодневных растений	331
9.3.3. Влияние <i>P</i> ДК на ускорение цветения у короткодневных растений	334
9.4. Реакции ДДР	334
9.5. Стимул цветения	337
9.6. Устойчивость фотопериодической индукции листьев	341
9.7. Естественное торможение цветения	344
9.8. Измерение времени в фотопериодической реакции	347
9.9. Эндогенные ритмы в фотопериодизме	347
9.10. Последовательность процессов, ведущих к синтезу гормона	352
Литература	353
Глава 10. Физиология цветения: температура и другие факторы	351
10.1. Яровизация	354
10.1.1. Типы растений, требующих охлаждения для перехода к цветению	356
10.1.2. Виды, для которых характерна реакция на охлаждение и фотопериодизм	358
10.1.3. Физиологические аспекты яровизации	359
10.1.4. Природа изменений, происходящих во время яровизации	362
10.1.5. Стимул цветения в яровизации	363
10.2. Природа стимула цветения	365
10.2.1. Попытки выделить стимул цветения	365
10.2.2. Влияние гиббереллинов и других ростовых гормонов на цветение	367

10.3. Сексуализация и гормоны роста	371
10.4. Изменения в апексе побега во время заложения цветка	372
10.5. Питание и цветение	374
10.6. Цветение «нейтральных» видов	375
10.7. Разнообразие факторов, регулирующих цветение	378
10.8. Цветение древесных растений	379
10.9. Смена фаз у древесных растений	381
Литература	384
Глава 11. Покой	385
11.1. Биологическое значение покоя	385
11.2. Типы покоя	387
11.3. Покой почек у древесных растений	388
11.3.1. Развитие покоя почек	390
11.3.2. Выход почек из покоя	392
11.3.3. Покой других органов	394
11.3.4. Способы искусственного прерывания покоя почек	394
11.4. Покой семян	395
11.4.1. Твердосемянность	395
11.4.2. Недоразвитость зародыша	395
11.4.3. Послеуборочное дозревание при сухом хранении	396
11.4.4. Светочувствительные семена	397
11.4.5. Снятие покоя охлаждением	399
11.4.6. Значение оболочек в покое семян	401
11.4.7. Сходство между покоем семян и почек	404
11.5. Гормональная регуляция покоя	405
11.6. Долговечность семян	413
11.7. Прорастание	414
11.7.1. Условия прорастания	414
11.7.2. Процесс прорастания	416
Литература	419
Глава 12. Старение и опадение органов	420
12.1. Введение	421
12.2. Биологическое значение старения	423
12.3. Механизм старения	424
12.3.1. Постепенное старение листа	424
12.3.2. Старение отделенных листьев	428
12.3.3. Старение цветков	432
12.3.4. Старение всего растения	435
12.4. Синхронное старение листьев	438
12.5. Гормоны и опадение	439
12.5.1. Опадение листьев	440
12.5.2. Опадение плодов	444
Литература	445
РАЗДЕЛ IV. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ОБЩИЕ АСПЕКТЫ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ	
Введение	447
Глава 13. Экспрессия генов и детерминация клеток в развитии	448
13.1. Гены и развитие	448
13.2. Состав генома эукариот	449
13.3. Организация генома эукариот	451
13.4. Процессинг продуктов транскрипции	456
13.5. Информационная РНК	457
13.6. ДНК органелл	458

13.7. Регуляция экспрессии генов у бактерий	459
13.8. Регуляция экспрессии генов у эукариот	461
13.9. Регуляция процессинга ядерной РНК	464
13.10. Регуляция экспрессии генов на уровне трансляции	465
13.11. Взаимодействие ядра и цитоплазмы в процессе дифференцировки	469
13.12. Последовательная экспрессия генов в целом растении	471
13.13. Дифференцированное состояние	472
13.14. Детерминация при развитии растений	475
13.14.1. Природа изменений, сопровождающих детерминацию	477
13.14.2. Тотипотентность и детерминация	479
13.14.3. Различия в детерминации верхушки побега и кончика корня	480
13.15. Дальнейшая дифференцировка апикальных зон	484
13.16. Гормоны и дифференцировка	487
13.17. Взаимодействие между клетками растений на близких расстояниях	489
13.18. Негенные факторы развития	492
Литература	494
Предметный указатель	496
Указатель латинских названий	503

Филип Франк Уоринг

Ирвинг Дэвид Джеймс Филлипс

РОСТ РАСТЕНИЙ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА

Научный редактор М. Б. Николаева. Мл. научный редактор Н. Ю. Плавинская. Художник М. Н. Кузьмина. Художественный редактор А. В. Лисицын. Технический редактор З. И. Резник. Корректор Н. В. Андреева

ИБ № 3605

Сдано в набор 19.07.83. Подписано к печати 09.01.84. Формат 60×90¹/₁₆. Бумага кп.-журн. Гарнитура литературная. Печать высокая. Усл. печ. л. 32,00. Объем 16,00 бум. л. Усл. кр.-отг. 32,00. Уч.-изд. л. 31,40. Изд. № 4/2480. Тираж 2800 экз. Зак. 1429. Цена 5 р.

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»

Москва, 1-й Рижский пер., 2.

Московская типография № 11 Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. Москва, 113105, Нагатинская ул., д. 1.
